

T H E S E présentée  
pour l'obtention  
du  
DIPLOME de DOCTEUR de 3e CYCLE  
à  
L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE  
- Paris 6 -

spécialité :     PATHOLOGIE VEGETALE

par M .....Maurice LOURD .....

Sujet de la thèse :

LES COLLETOTRICHUM AGENTS D'ANTHRACNOSE EN COTE D'IVOIRE.  
RECHERCHES SUR LA STRUCTURE DE L'ESPECE COLLETOTRICHUM GLOESPORIODES  
PENZ. COMPAREE A COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA (CES.) WILSON.

soutenue le .....24 Juin 1982... devant la Commission composée de :

M ..... G.. BOMPEIX..... Président

M ..... P.. JOLY.. ..... examinateur

M ..... J.. PERNES..... «

M ..... A.. BENBADIS..... «

- REMERCIEMENTS -

En préambule à ce mémoire, je voudrais évoquer le souvenir du Professeur Maurice GOUJON à qui ce travail est dédié. Auprès de lui j'ai découvert le milieu tropical et j'ai appris la Phytopathologie. Son expérience, sa patience et ses encouragements m'ont été infiniment précieux. Je dois rendre à sa mémoire l'hommage le plus reconnaissant.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur BOMPEIX d'avoir accepté de juger mon travail en présidant le jury. Je suis très reconnaissant des nombreux conseils qu'il m'a prodigués pour la rédaction et la mise en forme de ce mémoire.

Monsieur JOLY a consacré beaucoup de temps à la lecture et à la correction du manuscrit. Je le remercie de l'intérêt qu'il a porté à mon travail et d'accepter d'en être le rapporteur. Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur BENBADIS pour sa participation à mon jury.

Je sais gré à Monsieur le Professeur PERNES pour l'aide morale et matérielle qu'il m'a généreusement fournie tout au long de la période de rédaction et d'exploitation mathématique des données. J'exprime ma reconnaissance à toutes les personnes de son laboratoire qui m'ont encouragé et aidé sans compter.

Ce travail a été réalisé pour l'essentiel au laboratoire de Phytopathologie du centre ORSTOM d'Adiopodoumé en Côte d'Ivoire. Je dois à mes collègues J.P. GEIGER et B. HUGUENIN d'y avoir participé activement dans l'esprit d'équipe qui fut le nôtre en toutes circonstances. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements auxquels je ne manquerai pas d'associer tous mes amis du laboratoire, Français et Ivoiriens, pour leur concours permanent.

- SOMMAIRE -

	PAGES :
INTRODUCTION .....	1
PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES <i>COLLETOTRICHUM</i>	4
1. Caractéristiques générales et taxonomie .....	4
2. Biologie et pouvoir pathogène .....	7
MATERIEL ET METHODES	10
1. Les isolats du champignon .....	10
1.1. Origine et isolement du <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	10
1.2. Origine et isolement du <i>Colletotrichum graminicola</i>	10
1.3. Conditions de culture .....	15
2. Etude des caractéristiques morphologiques et culturelles	15
2.1. Les caractères qualitatifs .....	15
2.2. Les caractères quantitatifs .....	15
3. L'analyse enzymatique .....	16
3.1. Méthodes de culture et d'extraction .....	16
3.2. L'électrophorèse .....	17
3.3. Lecture des zymogrammes .....	18
4. L'étude du pouvoir pathogène .....	18
4.1. Les plantes hôtes .....	18
4.2. Méthodes d'inoculation .....	20
5. L'analyse des données .....	21
5.1. Les mesures de la ressemblance .....	21
5.2. L'analyse factorielle des correspondances .....	22

	PAGES :
CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET CULTURALES	23
1. Les isolats de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. ....	23
1.1. Les caractères qualitatifs .....	24
- l'aspect du mycélium .....	24
- les fructifications asexuelles .....	25
- les fructifications sexuelles .....	26
1.2. Les caractères quantitatifs .....	27
- mensurations des conidies .....	27
- vitesse de croissance mycélienne .....	30
1.3. Synthèse des données et discussion .....	32
2. Les isolats de l'espèce <i>Colletotrichum graminicola</i> (Ces.)	
Wilson ..	38
2.1. Les caractères cultureux .....	39
- l'aspect du thalle .....	39
- La couleur de la culture .....	40
2.2. Les caractères quantitatifs .....	40
- mensurations des conidies .....	40
- croissance mycélienne .....	43
2.3. Synthèse des données et discussion .....	46
CARACTERES BIOCHIMIQUES. Etude par électrophorèse de différentes activités enzymatiques.	50
1. Etude des profils enzymatiques chez les isolats de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	51
1.1. Activités $\alpha$ -estérases .....	51
1.2. Activités phosphatases acides .....	55
1.3. Activités leucyl-amino-peptidases .....	57
1.4. Synthèse des analyses enzymatiques .....	59

	PAGES :
2. Caractéristiques biochimiques des <i>Colletotrichum graminicola</i>	61
2.1. Les protéines totales .....	62
2.2. Activités $\alpha$ -estérases .....	62
2.3. Activités phosphatases acides .....	65
2.4. Activités leucyl-amino-peptidases .....	67
2.5. Synthèse des analyses enzymatiques .....	67
ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE	71
1. Le pouvoir pathogène des isolats de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	72
1.1. Tests sur les plantes-hôtes d'origine .....	73
- inoculations sur plantes entières .....	74
- inoculations sur fruits .....	77
1.2. Evaluation qualitative du pouvoir pathogène .....	80
1.3. Evaluation quantitative du pouvoir pathogène .....	84
2. Le pouvoir pathogène chez les isolats de <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	91
DISCUSSION	96
1. Données relatives à l'espèce <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	96
2. Données relatives à l'espèce <i>Colletotrichum graminicola</i>	101
CONCLUSIONS	103
BIBLIOGRAPHIE	107

## INTRODUCTION

Parmi les champignons phytopathogènes des plantes tropicales, les *Colletotrichum* et leur forme parfaite *Glomerella* tiennent une place importante du fait de leur très large répartition sur une gamme d'hôtes extrêmement variée.

Ils sont le plus souvent responsables de maladies désignées sous le terme général d'antracnoses qui correspondent à des altérations nécrotiques affectant principalement les parties aériennes des plantes : rameaux, feuilles et fruits.

En Côte d'Ivoire, les antracnoses sont communes sur cultures maraîchères et fruitières, sur cultures ornementales, sur cultures pérennes industrielles ou traditionnelles telles que : palmier à huile, hévéa, caféier, cacao, ainsi que sur de nombreuses cultures vivrières : igname, manioc, patate douce, etc. (BOISSON et RENARD 1967, CHEVAUGEON 1956, RESPLANDY et al. 1954).

D'une manière générale, ce sont des maladies de faiblesse ou des infections secondaires qui peuvent affecter sensiblement le développement des plantes ou altérer les produits de la récolte, mais leur incidence peut devenir beaucoup plus importante dans le cas d'infection très spécifique comme l'antracnose des baies de caféier où dans le cas de développement épidémique brutal comme cela est constaté actuellement sur *Stylosanthes* en Côte d'Ivoire précisément (GEIGER, communication personnelle).

Une abondante littérature rapporte les descriptions de nombreuses espèces de *Colletotrichum* et *Gloeosporium*, pathogènes responsables de ces maladies, champignons imparfaits de l'ordre des Mélanconiales représentant pour nombre d'entre eux le stade conidien du genre *Glomerella*.

Ces descriptions reposant essentiellement sur la morphologie du champignon en culture pure, conduisirent à la caractérisation de plusieurs cen-

taines d'espèces dont la dénomination faisait surtout référence à l'hôte d'origine des isolats.

Très rapidement cependant, des chercheurs travaillant aussi bien sur les formes imparfaites *Colletotrichum* que sur les formes sexuées *Glomerella*, soulignèrent l'importante variabilité morphologique de leurs isolats. SHEAR et WOOD (1913) étudiant la morphologie et le pouvoir pathogène d'isolats provenant de trente-six hôtes différents, observèrent que les variations morphologiques étaient aussi importantes entre les différents isolats d'un même hôte qu'entre les isolats provenant de différents hôtes. Ils en conclurent que les différences morphologiques et physiologiques étaient une source importante de confusion dans la séparation des espèces. Analysant le pouvoir pathogène, ces mêmes auteurs constatèrent que la plupart des isolats étudiés étaient très polyphages, donc susceptibles de parasiter de nombreuses plantes autres que celles dont ils étaient issus.

Le problème était donc déjà perçu de savoir quelle réalité biologique pouvait recouvrir la taxonomie complexe des *Colletotrichum*.

Von ARX (1957) apporta une importante contribution aux travaux développés jusqu'alors en révisant la systématique du genre *Colletotrichum* dans un esprit évident de simplification. Le genre *Colletotrichum* se trouve réduit à onze grandes espèces dont la principale, *C. gloeosporioides*, recouvre près de six cents espèces antérieurement décrites. *C. gloeosporioides* constitue la forme conidienne de *Glomerella cingulata*. Cette classification, établie essentiellement à partir de données morphologiques, assez larges il est vrai, fait cependant quelques concessions aux caractères pathologiques puisque plusieurs souches spécialisées ont gardé leur statut spécifique.

Cette révision taxonomique est fréquemment contestée (HINDORF 1973, SIMMONDS 1965) mais elle présente l'avantage de réunir sous un même taxon *C. gloeosporioides* un ensemble d'"espèces" ayant des caractéristiques communes et constituant, au plan phytopathologique, un groupe de différentes souches responsables d'un même type de maladies : les anthracnoses.

Pour le phytopathologiste confronté aux problèmes de diagnostic sur le terrain, la classification de Von ARX permet une détermination rapide des isolats. Mais les importantes variations observées aussi bien au niveau du comportement parasitaire que des caractéristiques morphologiques conduisent à s'interroger sur la signification d'une telle variabilité.

Existe-t'il, au sein de cet ensemble polymorphe, des groupes différenciés correspondant à des types pathogènes particuliers ? L'utilisation de descripteurs autres que les caractères morphologiques peut-elle permettre une meilleure définition du taxon ?

L'étude que nous avons entreprise en Côte d'Ivoire a pour but de contribuer à une meilleure connaissance des *Colletotrichum*, pathogènes très répandus dans ce pays. Le présent travail constitue une approche descriptive de ce taxon en essayant d'apporter des éléments de réponse aux questions soulevées sur la structure et la variabilité de l'espèce. L'analyse porte sur quelques caractéristiques morphologiques, biochimiques et pathologiques de quarante isolats de *C. gloeosporioides* sensu Von ARX. Un essai de synthèse de l'ensemble des données recueillies est effectuée grâce aux méthodes de l'analyse numérique.

Parallèlement, différents isolats de *C. graminicola* sont étudiés selon les mêmes critères de description. La comparaison des deux espèces permet de mieux définir leur structure respective.



## PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES COLLETOTRICHUM

---

### 1. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES ET TAXONOMIE

Le genre *Colletotrichum* Cda. regroupe des champignons imparfaits de l'ordre des Mélanconiales dont les caractères généraux sont les suivants .

Le thalle est constitué d'un mycélium hyalin au stade jeune puis progressivement coloré à maturité gris à brun sombre ou noir. Il se compose de filaments grêles, cylindriques, cloisonnés, de 3 à 5  $\mu$ m de diamètre. Dans les tissus de la plante-hôte, au moment de la fructification, les hyphes se condensent en un stroma sous-épidermique qui devient externe après rupture des tissus superficiels de la plante. Ces fructifications étalées et superficielles nommées acervules, dont les dimensions peuvent varier de 40  $\mu$ m à 1mm ou plus, portent un grand nombre de stérigmates dressés, émettant à leur extrémité des spores unicellulaires hyalines : les conidies. Au sein des acervules, celles-ci sont réunies en masse dans une substance mucilagineuse colorée, variant du rose pale au rouge orangé.

Les conidies des *Colletotrichum* présentent deux formes générales : elles sont droites, cylindriques ou légèrement ovoïdes, dont les extrémités sont de façon variable plus ou moins effilées ou arrondies ; ou elles sont plus typiquement arquées, falciformes et pointues aux extrémités.

Les acervules sont parfois pourvus de filaments rigides ou flexueux,

de 40 à 80  $\mu$ m de longueur, bruns foncés, non ramifiés, cloisonnés et le plus souvent stériles. Ce sont les soies, dont la production peut varier selon la nature du substrat et les conditions de milieu (FROST 1964).

Ce dernier caractère fut longtemps à l'origine de la séparation des genres *Colletotrichum* Cda et *Gloeosporium* Desm. et Mont., le premier caractérisé par des acervules pourvus de soie, le second par des acervules glabres. ROGER (1954) admet le caractère purement conventionnel de la séparation de ces deux genres et considère qu'il serait plus logique de parler de "formes" avec soies ou sans soies. Von ARX (1957) ne retiendra plus que le genre *Colletotrichum*.

De très nombreuses espèces rapportées à ces deux genres furent décrites séparément suivant les plantes à partir desquelles elles furent isolées. Il apparut très rapidement que des regroupements devenaient nécessaires compte tenu de leurs caractéristiques générales communes et, dans la majorité des cas, de leur absence de spécificité parasitaire.

Ce regroupement devenait plus évident dès lors que STONEMAN (cité par Von ARX 1957) mettait en évidence la relation existant entre *Glomerella* Spaul. et Schr. ascomycète de l'ordre des Sphaeriales et *Colletotrichum* qui en constitue la forme conidienne. SMALL (1926) suggéra alors que la plupart des espèces de *Colletotrichum*, difficilement distinguables entre elles par leur morphologie, soient réunies sous l'espèce *C. gloeosporioides* Penz. étant donnée sa priorité et sa connexion avec la forme parfaite *Glomerella cingulata* (Ston.) Spaul. et Schr..

C'est la conception que reprit Von ARX dans sa révision du genre *Colletotrichum*. Parallèlement à *C. gloeosporioides* qui regroupe la plupart des souches à spores droites, Von ARX distingue deux grandes espèces chez les souches à spores falciformes : *C. dematium* (Pers.) Grove et *C. graminicola* (Ces.) Wilson. Sous le dernier taxon sont réunies toutes les souches parasites des graminées y compris celles de la canne à sucre, qui constituaient une espèce particulière : *C. falcatum* Went. Dans ce contexte, *C. graminicola* représente la forme conidienne de *Glomerella tucumanensis* (Speg.) Arx et Müller, nouvelle dénomination du *Physalospora tucumanensis* Spe., forme périthéciale du *C. falcatum*.

Les caractéristiques anatomiques du *C. graminicola* données par Von ARX sont les suivantes : les acervules qui apparaissent à la surface des tissus parasités, de dimensions variant entre 70 et 300  $\mu\text{m}$ , sont formés de nombreux conidiophores émettant à leur extrémité des conidies hyalines, unicellulaires, arquées. Celles-ci ont pour dimensions 22 à 40  $\mu\text{m}$  de longueur, 5,5 à 6,5  $\mu\text{m}$  de largeur. Les acervules comprennent également de nombreuses soies dressées, brunes ou noires, de 100 à 200  $\mu\text{m}$  de long.

Les périthèces apparaissent tardivement sur les tissus morts. Ils sont ostiolés, ovoïdes, mesurant de 100 à 260  $\mu\text{m}$  de diamètre et contiennent des asques à 8 ascospores arquées, hyalines, unicellulaires, de dimensions moyennes : 18-22 x 7-8  $\mu\text{m}$ .

Dans le groupe *C. gloeosporioides*, les données biométriques relatives aux conidies sont assez variables selon les isolats et le substrat, comme l'a montré FOURNET (1973). Von ARX donne les dimensions moyennes suivantes : 12-19  $\mu\text{m}$  de longueur et 4-6  $\mu\text{m}$  de largeur.

Les variations sont également importantes pour les dimensions des fructifications sexuelles du *Glomerella cingulata*. Les périthèces sphériques ou piriformes, pourvus d'un ostiole, mesurent de 100 à 300  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ils renferment les asques allongés en forme de massue dont les dimensions moyennes sont de 42-60  $\mu\text{m}$  x 10-12  $\mu\text{m}$ . Chaque asque contient huit ascospores rangées en deux files. Les ascospores sont hyalines, unicellulaires, arquées en forme de croissant, mesurant 12-24  $\mu\text{m}$  x 4-6  $\mu\text{m}$  en moyenne.

Bien que la liaison entre la forme conidienne *C. gloeosporioides* et la forme parfaite *Glomerella cingulata* soit maintenant très généralement admise, de nombreux isolats de *Colletotrichum* ne présentent jamais la forme sexuée. Celle-ci apparaît donc de façon très inconstante en culture pure et peut parfois être induite par exposition aux rayons ultra-violets (STEVENS 1930).

La formation du périthèce "in vitro" est un processus complexe, commandé par au moins quatre loci (WHEELER et Mc GAHEN 1952), dont le blocage peut entraîner l'apparition de souches mutantes partiellement fertiles. La plus

fréquente de ces mutations est celle qui conduit au type "minus" d'EDGERTON (1914) morphologiquement différent de la souche sauvage ou type "plus".

Les souches "minus" qui apparaissent régulièrement dans les clones monoascospores, se caractérisent par la formation de périthèces non disposés en glomérules mais isolés et dispersés sur tout le thalle. Le type "minus" est stable et apparaît régulièrement dans toutes les descendance de souches sauvages "plus". FOLLIN (1968) considère que la constance d'apparition de cette forme doit correspondre beaucoup plus à une modification du métabolisme nécessaire à l'accomplissement de la sexualité dans les conditions de culture "in vitro" qu'à une mutation simple. De plus, il faut noter que la confrontation de ces deux formes issues d'une même descendance est compatible et conduit à la formation d'une ligne de périthèces hybrides au contact des thalles. Il semble que la confrontation soit non compatible entre type "plus" et type "minus" de différentes origines (LUCAS et al. 1944). Par ailleurs, des études cytologiques réalisées par LUCAS (1946) et WHEELER et al. (1948) montrent que l'asque jeune est le siège d'une fusion nucléaire puis d'une division réductionnelle conduisant à la formation d'ascospores uninucléées et haploïdes. Le nombre chromosomique serait de  $n=4$ .

## 2. BIOLOGIE ET POUVOIR PATHOGÈNE

D'une manière générale, les anthracnoses sont considérées comme des maladies de faiblesse dont le développement est favorisé sur les plantes présentant un déséquilibre physiologique. Le champignon attaque préférentiellement des organes jeunes ou vulnérables tels que jeunes feuilles et fleurs ou peut envahir rapidement les tissus blessés par suite de piqûres d'insectes par exemple.

Le mycélium se développe dans les tissus par voie inter et intracellulaire. La rapidité de sa progression dépend beaucoup de la nature du substrat et des conditions d'environnement. Les fructifications sexuelles sont produites

à la surface des tissus infectés et sont d'autant plus nombreuses que l'humidité est élevée. La propagation du champignon est assurée par les conidies produites en très grand nombre, véhiculées surtout par l'eau et les insectes.

Les fructifications sexuelles ou périthèces sont rares sur les nécroses en formation ou en cours d'évolution. Quand elles existent, elles apparaissent le plus souvent sur les tissus déjà fortement altérés et desséchés.

Pendant les périodes défavorables, sécheresse prolongée par exemple, le champignon peut se maintenir à l'état latent, en phase saprophytique sur les tissus morts, dans la cuticule des graines lorsque le fruit a été le siège d'une attaque ou tout simplement à la surface des organes végétaux en simple épiphyte.

En zone tropicale où les anthracoses sont les plus répandues, la température optimale de développement se situe entre 25 et 30°C pour tous les isolats étudiés quelle que soit leur plante d'origine. Cet optimum peut être beaucoup plus faible, 18 à 23°C pour les *Colletotrichum* de régions tempérées comme le *C. lindemuthianum* du haricot. La température optimale pour la sporulation est du même ordre.

Les *Colletotrichum* du groupe *C. gloeosporioides* sont en règle générale très polyphages bien que peu agressifs. Les données concernant l'étendue de leur pouvoir pathogène sont extrêmement nombreuses et variables selon les isolats et les procédures d'inoculation utilisées mais toutes font ressortir leur aptitude générale à coloniser les hôtes et les organes végétaux les plus divers.

Cependant, certains sont beaucoup plus spécifiques. Le *C. lindemuthianum*, agent pathogène de l'anthracnose du haricot, est un exemple de haute spécificité parasitaire qui se caractérise par l'existence de races physiologiques particulières au sein de la population pathogène. Quatre grands groupes de pathotypes ont été déterminés. Leurs réactions à l'égard d'une gamme de variétés différentielles de l'hôte permettent de conclure à l'existence de relations hôte-parasite de type vertical selon la terminologie de VAN DER PLANK (BANNEROT 1968,

ALLARD 1972). Des relations du même ordre ont été mises en évidence entre le *C. orbiculare* et les Cucurbitacées (JENKINS et al. 1964). Enfin, les travaux récents de VAN DER VOSSEN et WALYARO (1980) montrent que la résistance des caféiers à l'antracnose des baies est gouvernée par des gènes majeurs dominants chez certaines variétés de l'hôte. Ceci laisserait supposer qu'il existe chez le pathogène des gènes de virulence correspondants, mais aucun pathotype particulier de *C. coffeanum* n'a été mis en évidence à ce jour.

Chez les *Colletotrichum* graminicoles, il semble que la spécialisation parasitaire soit assez étroite, particulièrement chez les souches qui attaquent la canne à sucre. ROGER (1954) signale toutefois qu'elles sont capables d'infecter également le sorgho. Les souches provenant d'autres graminées présentent un pouvoir pathogène plus large dans la mesure où un isolat n'est pas spécifique de sa plante d'origine. LEBEAU (1950) montre cependant que des groupes peuvent être distingués selon l'étendue du pouvoir pathogène.

## MATERIEL ET METHODES

### 1 LES ISOLATS DU CHAMPIGNON

#### 1.1. ORIGINE ET ISOLEMENT DU COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES

L'échantillon étudié regroupe 40 isolats provenant de 31 hôtes différents, collectés sur l'ensemble du territoire de la Côte d'Ivoire (tableau 1 et figure 1).

Les isolements sont effectués à partir d'organes végétaux malades, feuilles, fruits ou rameaux montrant des symptômes typiques d'antracnose, de pourriture ou de dessèchement ayant pour origine descryptogames de l'espèce *C. gloeosporioides* Penz. au sens de Von ARX (1957).

Les parties de végétal infectées sont ammenées au laboratoire et déposées pendant 24 à 48 heures sous humidité élevée, proche de la saturation afin de favoriser la sporulation du champignon. Lorsque les fructifications sont bien développées, les conidies sont prélevées à l'aide d'une aiguille, transférées sur le milieu de culture en boîte de Pétri et étalées avec une baguette de verre. Chaque isolat est alors cloné à partir de spores isolées (30 à 40 par isolat). Parmi tous les clones qui présentent dans leur majorité un même faciès considéré comme caractéristique de l'isolat, un seul est retenu pour constituer la souche de référence.

#### 1.2. ORIGINE ET ISOLEMENT DU COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA

L'échantillon analysé comprend six isolats originaires de Côte d'Ivoire collectés sur canne à sucre, sorgho et maïs, auxquels viennent s'ajouter quatre isolats de maïs provenant de France (Montpellier) et 1 isolat du sorgho venant de Guadeloupe. Ces derniers ont été collectés par C.M. MESSIAEN (fig.1 et tableau 2). L'isolement et le clonage sont réalisés selon les mêmes méthodes que précédemment.

TABLEAU 1 : - Origine géographique et parasitaire des isolats de  
*Colletotrichum gloeosporioides*.

<u>N°</u>	<u>Code</u>	<u>Plante hôte</u>	<u>Organe attaqué</u>	<u>Lieu de récolte</u>
1	AG	<i>Solanum melongena</i>	Fruit	Adiopodoumé
2	AGL	<i>Solanum integrifolium</i>	Fruit	Adiopodoumé
3	AR *	<i>Arachis hypogaea</i>	Tige	Adiopodoumé
4	AV	<i>Persea americana</i>	Rameau	Dabakala
5	BN	<i>Musa sp</i>	Fruit	Adiopodoumé
6	BR	<i>Breynia nivosa</i>	Tige	Adiopodoumé
7	CA	<i>Theobroma cacao</i>	Feuille	Gagnoa
8	CE	<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	Feuille	Adiopodoumé
9	CF 1	<i>Coffea arabica</i>	Rameau	Man
10	CF 2	<i>Coffea canephora</i>	Rameau	Adiopodoumé
11	CF 3 *	<i>Coffea canephora</i>	Rameau	Adiopodoumé
12	CR	<i>Codiaeum variegatum</i>	Feuille	Ferkéssédougou
13	CT	<i>Gossypium hirsutum</i>	Fruit	Bouaké
14	DI	<i>Dieffenbachia sp</i>	Feuille	Adiopodoumé
15	FV	<i>Vicia faba</i>	Tige	Adiopodoumé
16	HE *	<i>Heliconia sp</i>	Feuille	Adiopodoumé
17	HV	<i>Hevea brasiliensis</i>	Feuille	Dabou
18	IG	<i>Dioscorea alata</i>	Tige	Bouaké
19	KF	<i>Hibiscus cannabinus</i>	Tige	Bouaké
20	MC	<i>Manihot utilissima</i>	Tige	Adiopodoumé
21	MG 1	<i>Mangifera indica</i>	Feuille	Korhogo
22	MG 2	<i>Mangifera indica</i>	Rameau	Korhogo
23	PH	<i>Philodendron sp</i>	Feuille	Adiopodoumé
24	PI 1	<i>Capsicum annuum</i>	Fruit	Touba
25	PI 2	<i>Capsicum annuum</i>	Fruit	Adiopodoumé
26	PL 8	<i>Elaeis guineensis</i>	Feuille	Aboisso
27	PL 10	<i>Elaeis guineensis</i>	Feuille	Dabou
28	PP 1	<i>Carica papaya</i>	Feuille	Adiopodoumé
29	PP 2	<i>Carica papaya</i>	Feuille	Adiopodoumé
30	PP 3	<i>Carica papaya</i>	Fruit	Dabakala
31	PP 4	<i>Carica papaya</i>	Fruit	Dabakala

.../...



.../...

<u>N°</u>	<u>Code</u>	<u>Plante hôte</u>	<u>Organe attaqué</u>	<u>Lieu de récolte</u>
32	PP 5	<i>Carica papaya</i>	Fruit	Dabakala
33	PP 6*	<i>Carica papaya</i>	Feuille	Adiopodoumé
34	PS *	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	Feuille	Kpouébo
35	PT	<i>Ipomoea batatas</i>	Tige	Dabakala
36	PV*	<i>Capsicum annum</i>	Fruit	Bouaké
37	RO	<i>Rosa sp.</i>	Tige	Adiopodoumé
38	RZ	<i>Oryza sativa</i>	Feuille	Bouaké
39	SI	<i>Entandophragma sp.</i>	Feuille	Oumé
40	TO	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Tige	Adiopodoumé

\* Isolats étudiés seulement pour leurs caractères enzymatiques.

TABLEAU 2 : - Origine géographique et parasitaire des isolats de *Colletotrichum graminicola*.

<u>N°</u>	<u>Code isolat</u>	<u>Plante hôte</u>	<u>Localité</u>	<u>Collecteur</u>
41	CS 1	<i>Saccharum officinarum</i>	Adiopodoumé (CI)	M. LOURD
42	CS 2	" "	"	"
43	CS 3	" "	"	"
44	CS F	" "	Ferkessedougou (CI)	"
45	SO	<i>Sorghum vulgare</i>	Korhogo (CI)	"
46	SO G	" "	Guadeloupe	C.M. MESSIAEN
47	MI	<i>Zea mays</i>	Ferkessedougou ( CI)	"
48	MF 1	" "	Montpellier (F)	"
49	MF 2 *	" "	"	"
50	MF 3 *	" "	"	"
51	MF 4 *	" "	"	"

\* Isolats étudiés seulement pour leurs caractères enzymatiques.

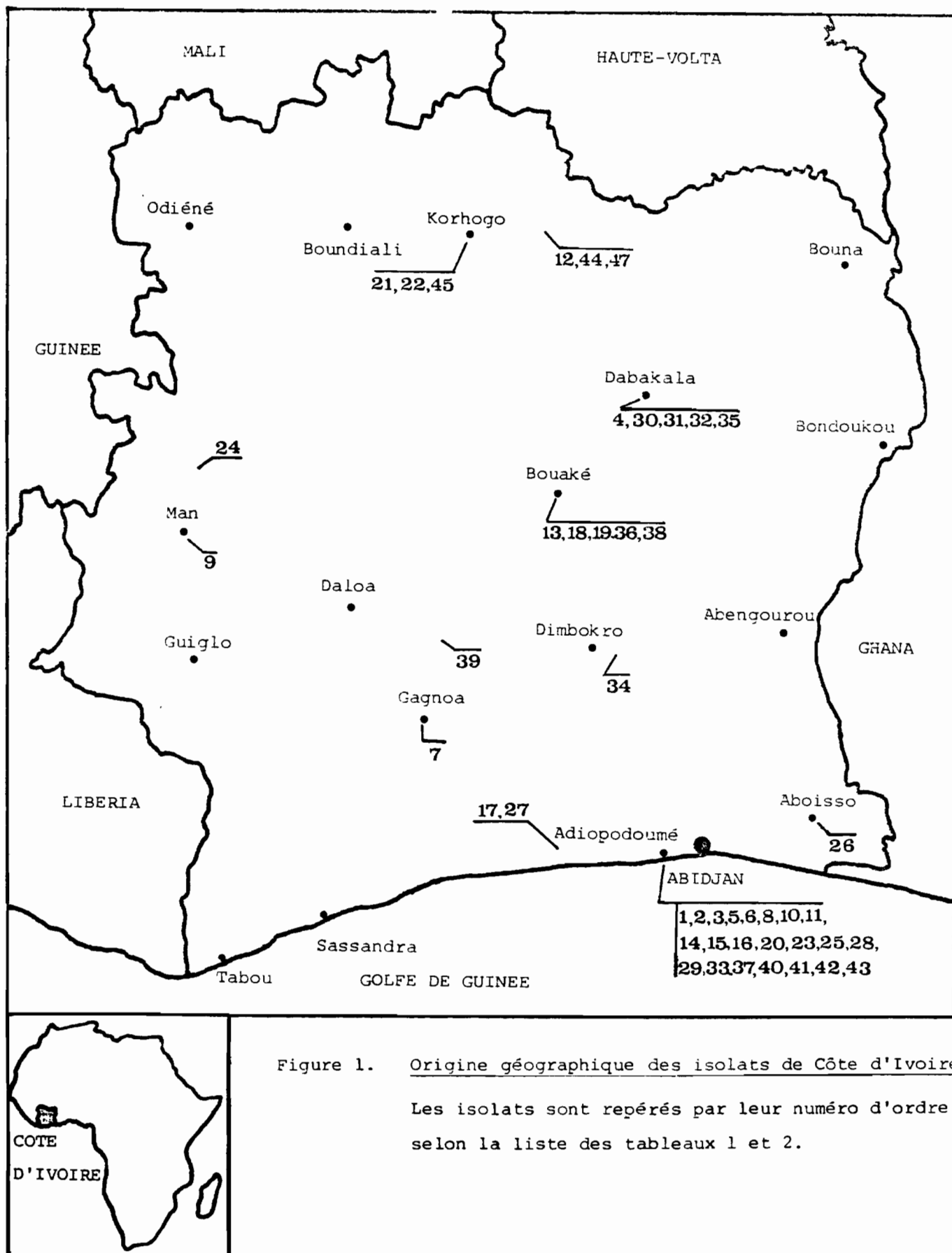


Figure 1. Origine géographique des isolats de Côte d'Ivoire.

Les isolats sont repérés par leur numéro d'ordre selon la liste des tableaux 1 et 2.

### 1.3. CONDITIONS DE CULTURE

Toutes les cultures sont effectuées sur le milieu à l'extrait de Malt de composition suivante : vingt grammes de Maltea moser + eau distillée q.s.p. un litre. Celui-ci peut être utilisé sous sa forme liquide pour les cultures réalisées en vue de l'analyse électrophorétique ou des inoculations, et sous forme solide par addition de vingt grammes d'Agar Agar pour la conservation des isolats et l'étude des caractéristiques morphologiques et culturelles.

La conservation des souches est assurée par culture en tubes à essai stockés à 20°C et à l'obscurité.

Par ailleurs, différentes conditions de culture sont adoptées en fonction des caractères étudiés. Elles seront précisées dans les chapitres correspondants.

## 2 ÉTUDE DES CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET CULTURALES

### 2.1. LES CARACTERES QUALITATIFS

Les caractères étudiés sont observés sur des thalles âgés de huit à quinze jours, cultivés en boîtes de Pétri de 12cm de diamètre, directement issus de la souche de référence de façon à éviter les variations morphologiques que pourraient entraîner des repiquages successifs. Toutes les cultures sont soumises à des conditions d'environnement identiques, à savoir : température de 27°C  $\pm$  2, obscurité, 80-90 p.100 d'humidité relative.

### 2.2. LES CARACTERES QUANTITATIFS

Les mensurations des spores asexuelles ont été déterminées sur un échantillon de trente conidies pour chaque isolat. Les valeurs retenues pour la longueur et la largeur sont les moyennes statistiques de l'échantillon. Les souches ont été classées sur les données de longueur ou largeur des spores par la comparaison des moyennes à l'aide du test de NEWMAN et KEULS (DAGNELIE 1975).

La vitesse de croissance mycélienne en fonction de la température est évaluée quotidiennement à partir du 2ème jour de culture par la mesure de 2 diamètres perpendiculaires du thalle. Chaque souche est cultivée en boîte de Pétri de 12 cm de diamètre à partir d'un implant calibré à l'emporte-pièce de 5 mm de diamètre. Les cultures sont placées à l'obscurité dans des boîtes à biscuits et soumises à 6 températures différentes : 20, 25, 27, 30, 32 et 35°C obtenues dans des étuves thermostatées réglées avec une précision de 0,5°C.

### 3 L'ANALYSE ENZYMATIQUE

#### 3.1. METHODES DE CULTURE ET D'EXTRACTION

Le champignon est cultivé sur milieu liquide, en Erlenmeyers de 250 ml, afin de favoriser le développement du mycélium. Chaque Erlenmeyer contenant 100 ml de milieu est ensemencé par 5 boutures calibrées à l'emporte-pièce de 5 mm de diamètre. Les cultures, à raison de 5 erlens par souche, sont conduites à 27°C  $\pm$  1 sous faible éclaircment continu (1 W/m<sup>2</sup>).

Des essais préalables ont été réalisés afin de déterminer l'influence du temps de culture sur la stabilité des spectres enzymatiques. Celle-ci n'est pas affectée pour les leucylaminopeptidases (LAP) et les phosphatases acides (a. Pase). Par contre la stabilité des zymogrammes estérases est obtenue seulement pour des cultures âgées de 5 jours.

L'extraction se déroule de la façon suivante. Le mycélium est recueilli par filtration du milieu de culture sur verre fritté. Après élimination des implants, il est lavé soigneusement à l'eau distillée puis essoré dans du papier filtre. Toutes les opérations suivantes sont effectuées au froid (4°C). Le mycélium est broyé dans un mortier en présence de sable de Fontainebleau jusqu'à obtenir une pâte fine et homogène. L'extrait brut obtenu par compression de la pâte à l'aide d'une seringue et d'une presse, de 1 à 3 ml selon l'échantillon, est ensuite centrifugé 10 minutes à 3000 g. Le surnageant est recueilli et aussitôt utilisé pour l'électrophorèse.

### 3.2. L'ELECTROPHORESE

L'électrophorèse est réalisée en gel d'amidon selon la technique de SMITHIES (1955) : gel d'amidon Connaught à 14 p.100 dans un tampon tris-maléate 0,03 M pH 7,0. Les extraits sont déposés par l'intermédiaire de pastilles de papier filtre épais (6 pastilles par plaque). La migration se déroule en chambre froide à 4°C sous tension constante de 120 V. durant 18 heures, soit un déplacement moyen de 15 cm du bleu de bromophénol utilisé comme marqueur du front.

Après démoulage et clivage, les gels sont incubés dans les mélanges réactionnels préconisés par SHAW et PRASAD (1970) :

#### - $\alpha$ -estérases :

$\alpha$ -naphtyl acétate de sodium.....	40 mg
Fast Blue RR.....	100 mg
Tampon phosphate mono-disodique 0,1 M pH 7,0..	100 ml

#### - Leucyl-amino-peptidases :

1-leucyl- $\beta$ -naphtylamide.....	50 mg
Black K salt.....	50 mg
Tampon tris-maléate 0,1 M pH 6,0.....	100 ml

#### - Phosphatases acides :

$\alpha$ -naphtyl phosphate de sodium.....	25 mg
Fast Garnet GBC.....	50 mg
Tampon acétate 0,05 M pH 5,0.....	100 ml

Après révélation, les gels sont fixés à l'acide acétique à 7 p.100. Ils peuvent être conservés plusieurs mois soit dans cette solution soit sous gaine plastique scellée. Par ailleurs, chaque zymogramme est archivé sous forme de document photographique.

### 3.3. LECTURE DES ZYMOGRAMMES

Ne disposant pas de densitomètre optique pour la lecture automatique des gels, nous avons effectué les relevés par repérage visuel des bandes sans pouvoir prendre en considération l'intensité de la coloration. Nous avons utilisé le procédé suivant : après la révélation et la fixation dans l'acide acétique, les gels sont placés entre deux plaques de verre transparent puis déposés sur un dépoli lumineux fortement éclairé. L'emprunte des zymogrammes est reproduite sur papier calque à partir duquel les mesures de Rf sont effectuées en fonction des migrations relatives par rapport au front.

Tous les essais sont doublés et chaque plaque comporte un témoin (isolat Pp2 ou Pp4). Les mélanges d'extraits sont effectués chaque fois que des individus présentent des spectres très voisins. De cette façon, les ambiguïtés liées à des bandes de Rf très voisins ou à des légères différences de migration entre les répétitions peuvent être levées.

## 4. L'ÉTUDE DU POUVOIR PATHOGÈNE

### 4.1. LES PLANTES HÔTES

Le choix des plantes hôtes était d'abord dicté par la nécessité de vérifier la nature réellement pathogène de chacun des isolats à l'égard de son hôte d'origine. Ensuite, il convenait de rechercher les plantes pouvant constituer une gamme d'hôtes susceptibles de révéler convenablement l'étendue et la nature du pouvoir pathogène de tous les individus de notre collection.

Dans le premier cas, nous avons pu réunir dans leur presque totalité les espèces végétales correspondant aux vingt-huit hôtes sur lesquels ont été prélevés nos isolats.

Pour la détermination du pouvoir pathogène, nous avons procédé par des essais successifs afin de sélectionner des plantes sur lesquelles il était possible d'évaluer ce pouvoir pathogène de façon qualitative et quantitative. Nous avons retenu des plantes de la famille des Cucurbitacées (concombre, melon), des Euphorbiacées (hévéa), des Malvacées (gombo, kénaf, roselle) et des Tilliacées (jute).

Les Cucurbitacées proviennent de semences commerciales CLAUSE. Il s'agit de la variété "géant de Sélestat" pour le concombre et des variétés "double" et "ido" pour les plantes de melon. Les plantules d'hévéa (*Hevea brasiliensis*) sont issues de graines du clone TJI provenant de la station IRCA de Côte d'Ivoire. Le gombo (*Abelmoschus esculentus*) est une variété locale cultivée dans la région d'Abidjan.

Toutes les autres plantes testées proviennent de semences fournies par l'IRCT de Bouaké. Il s'agit de deux variétés de kénaf (*Hibiscus cannabinus*) "soudan tardif" et "damara" et de la roselle verte (*H. sabdariffa*) pour ce qui concerne les Malvacées. Les plants de jute qui ont été inclus dans la gamme d'hôtes appartiennent à deux espèces, *Corchorus capsularis* et *C. olitorius*, la première étant représentée par trois variétés ("AS2", "branca", "lisa") et la seconde par deux variétés ("AS4", "BZ5").

Les plantes sont cultivées soit en pots sur substrat inerte, soit en tubes à essai en condition stérile selon les besoins de l'expérimentation. La culture en pots est réalisée de la façon suivante : les graines sont semées dans un mélange en proportions égales de sable et de vermiculite. Après la levée, les jeunes plantes sont alimentées deux fois par semaine avec une solution de Knop. Entreposées à l'extérieur du laboratoire, sous abri, les plantes se développent dans les conditions climatiques ambiantes : température de 23 à 30°C, humidité atmosphérique de 70 à 95 p.100, lumière naturelle.

Les plantes cultivées en condition artificielle sont élevées en tubes à essai de 24mm de diamètre. Chaque tube contient 15cm<sup>3</sup> de solution de Knop, l'ensemble étant stérilisé par un passage de 40 minutes à 120°C dans un autoclave. Avant le semis, les graines sont désinfectées dans une solution de chlorure mercurique à 1 p.1000. Chaque tube estensemencé par une graine. Les cultures se



développent dans les conditions du laboratoire : éclairage du jour, température de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

#### 4.2. METHODES D'INOCULATION

De très nombreuses méthodes d'inoculation ont été décrites dans la littérature pour la caractérisation du pouvoir pathogène chez les *Colletotrichum*. Elles peuvent se séparer en deux groupes : les unes s'effectuant sans blessure de l'hôte, les autres nécessitant la blessure de la plante. Dans la première catégorie on peut citer la méthode de MILHOLLAND (1975) qui procède au trempage des graines de *Vaccinium* dans une suspension de spores de *Glomerella cingulata*, l'inoculation de germinations ou de plantules par pulvérisation d'une suspension de spores de *Colletotrichum coffeanum* sur caféiers (VAN DER VOSSEN et al. 1976) ou de *C. lindemuthianum* sur haricots (CHARRIER et BANNEROT 1970). Dans la seconde catégorie on peut évoquer les inoculations par pique des fruits chez l'anthracnose de l'aubergine (FOURNET 1973), par blessure des tiges avec un scalpel sur le kénaf (FOLLIN et SCHWENDIMAN 1974), par pique avec une seringue pour l'anthracnose du jute (CHOUDHURY et AHMED 1969). Nous avons été amenés à tester ces différentes méthodes et à les adapter à notre matériel. Nous procéderons selon les cas par pulvérisation d'une suspension de spores avec ou sans blessure de la plante ou par injection d'une suspension dans la tige des plantes à l'aide d'une seringue. Ces procédés seront rappelés lors de l'exposé des résultats.

Dans tous les cas, l'inoculum est préparé de façon identique. Le champignon est cultivé sur milieu à l'extrait de Malt liquide en boîtes de Roux. Après une semaine de culture, le milieu est filtré sur verre fritté n°1 de façon à séparer le mycélium des conidies. Le filtrat est alors centrifugé et le culot contenant les spores est repris dans l'eau stérile de façon à obtenir une suspension homogène à la concentration de  $10^6$  spores par  $\text{cm}^3$ . Cette concentration a toujours été utilisée même pour les isolats produisant peu de conidies. Dans ce cas, la quantité de spores nécessaires a été obtenue à partir d'un volume de cultures plus important.

## 5 L'ANALYSE DES DONNÉES

### 5.1. LES MESURES DE LA RESSEMBLANCE

La classification des individus, après leur description sur un certain nombre de caractères, est effectuée grâce aux méthodes de la taxonomie numérique. Celles-ci consistent à situer des individus les uns par rapport aux autres et à les classer selon leur degré de ressemblance pour les caractères considérés (SOKAL et SNEATH 1963). L'emploi de méthodes mathématiques simples pour calculer les ressemblances nécessite la mise en place d'une codification claire et homogène. Chaque caractère étudié est donc représenté par un ensemble de signes conventionnels correspondant aux différents états possibles.

Les caractères morphologiques et culturels étudiés sont de deux types : qualitatif et quantitatif. Les caractères qualitatifs sont codés par des nombres entiers : 0 et 1 s'il s'agit d'un caractère à deux états tels que présence ou absence de fructification sexuelle, 0. 1. 2. ...s'il s'agit d'un caractère à plusieurs états tel que l'aspect du mycélium aérien. Ces caractères ne sont pas pondérés.

Les caractères quantitatifs qui correspondent à l'expression de variables continues ne présentent pas d'états distincts. Pour que leur traitement puisse être réalisé avec les caractères discontinus, une analyse de variance puis la comparaison des moyennes à l'aide du test de NEWMAN et KEULS (DAGNELIE 1975) permettent de délimiter des groupes significativement différents. Chacun d'eux est alors considéré comme un état du caractère qui peut être codé de la même façon qu'un caractère qualitatif.

La matrice de description individus x caractères est établie après codification de l'ensemble des caractères pour tous les isolats de la collection. Le degré de ressemblance des individus est ensuite évalué par le calcul d'un indice de similarité. L'indice de ROGERS et TANIMOTO utilisé pour les caractères multivalents correspond au rapport du nombre de coïncidences positives sur

le nombre d'états représentés pour tous les caractères dans chaque confrontation d'individus pris deux à deux. Cet indice est utilisé pour le traitement des caractères morphologiques et culturels.

Dans le cas des caractères bivalents, pour les spectres enzymatiques en particulier où chaque bande est considérée comme un caractère à deux états (présence ou absence), l'indice de SOKAL et MICHENER est utilisé. Il correspond au rapport des coïncidences (positives et négatives) sur le nombre total de caractères (SOKAL ET SNEATH 1963).

L'ensemble des valeurs de l'indice constitue la matrice de similarité à partir de laquelle peut être construit un dendrogramme par regroupements successifs des individus ou groupes d'individus les plus ressemblants (RENE-CHAUME 1975).

## 5.2. L'ANALYSE FACTORIELLE DES CORRESPONDANCES

Partant de la matrice de description individus x caractères, l'analyse factorielle donne une image simultanée de l'espace des individus et de l'espace des caractères. Le rapprochement des individus est donc effectué en fonction de leur profil sur l'ensemble des caractères.

Cette analyse utilisée pour le traitement des données enzymatiques et pour la synthèse générale a été réalisée au laboratoire de Génétique et Physiologie du Développement des Plantes du C.N.R.S. à Gif sur Yvette, sur l'ordinateur du Centre Inter Régional de Calcul Electronique, en utilisant les programmes mis au point par BENZECRI (1973). Les résultats donnés sous forme de dendrogramme sont directement extraits de l'analyse factorielle, la hiérarchisation étant obtenue par la maximisation du moment centré d'ordre 2 de la partition comme critère d'agrégation.

## CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET CULTURALES

Les caractères sur lesquels repose la description des isolats de notre collection ont été choisis en fonction d'une part, de leur stabilité en culture dans les conditions expérimentales, et d'autre part de leur pouvoir discriminant. La recherche de caractères stables est nécessaire du fait d'une importante variabilité morphologique chez les *Colletotrichum*, largement soulignée par de nombreux auteurs (SUTTON 1966, SIMMONDS 1965, STEPHAN 1967, *inter alia.*) et qui affecte tout particulièrement le taxon *C. gloeosporioides* (Von ARX 1957).

La deuxième condition préalable à nos observations vise à déterminer dans quelle mesure les différences existantes, dans les limites des caractéristiques reconnues de l'espèce, peuvent conduire à distinguer des individus ou groupes d'individus au sein de l'ensemble.

### 1 LES ISOLATS DE COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES PENZ

La comparaison porte sur 34 isolats et repose sur un ensemble de sept caractères observés en culture "in vitro". On distinguera les caractères de type qualitatif qui se rapportent à l'aspect du mycélium aérien, la forme et la répartition des acervules, les fructifications sexuelles et les caractères quantitatifs relatifs à la dimension des conidies et la vitesse de croissance mycélienne.

D'autres caractères distinctifs, susceptibles de séparer les isolats, n'ont pas été retenus car difficiles à appréhender de façon objective. C'est le cas, en particulier, de la couleur du mycélium ou des gelées sporifères. Ces caractères ne diffèrent d'un individu à l'autre que par de faibles nuances qui recouvrent un large spectre de couleur, du gris clair au brun-noir pour le mycélium et du beige-rosé au rouge-orangé pour les gelées sporifères. De ce fait, la distinction ne peut porter que sur les extrêmes et ne permet pas de séparer convenablement tous les individus.

Nous remarquerons d'autre part que la forme des appressoria n'a pas été prise en considération dans cette étude bien que SUTTON (1968) ou STEPHAN (1967) accordent à ce caractère un bon pouvoir discriminant pour séparer les espèces du genre *Colletorichum* ou distinguer des souches différentes de *C.gloeosporioides*. Des observations que nous avons effectuées sur des germinations obtenues "in vitro" sur lame de verre et "in vivo" sur plantes inoculées ne montrent pas de différence significative quant à la forme ou la taille des appressoria entre les isolats.

### 1.1. LES CARACTERES QUALITATIFS

#### -l'aspect du mycélium

Dans tous les cas, en culture pure, au stade jeune, le mycélium est d'abord hyalin puis devient progressivement pigmenté.

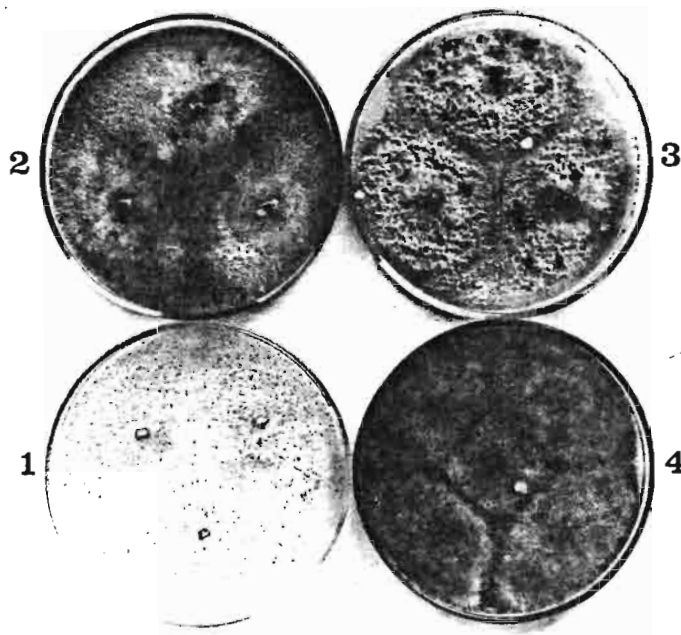
La couleur du thalle, résultat de cette pigmentation, est très variable, du blanc crème au brun noir selon les isolats. Elle s'accompagne également de la coloration du substrat dont la teinte n'est pas toujours correspondante à celle du mycélium aérien lorsque celui-ci est abondant.

La texture et l'abondance du mycélium aérien varient suivant les clones en leur conférant un faciès particulier. Ces variations sont cependant nettes et limitées suffisamment pour permettre de distinguer trois types caractéristiques de cultures.

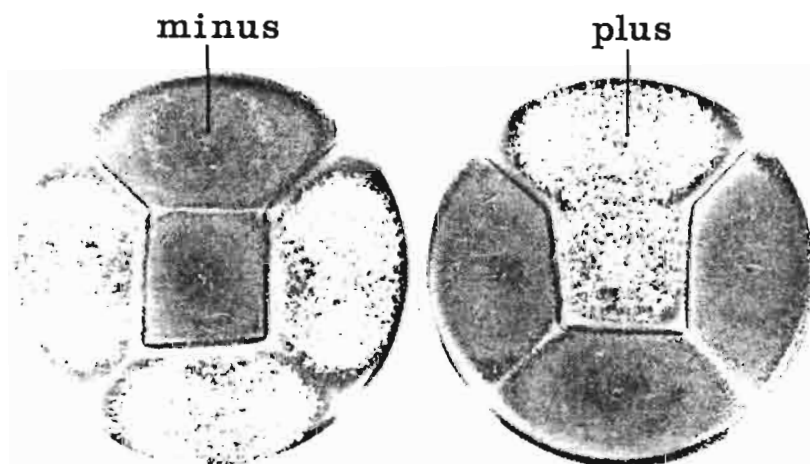
-Un premier groupe de 12 isolats présente un mycélium aérien ras, très diffus et peu visible. Ce faciès correspond surtout aux clones dont la sporulation asexuelle est abondante.

-Le type cultural le plus largement représenté se caractérise par un mycélium aérien d'aspect cotonneux, à structure lâche et formant parfois des mèches. 17 clones peuvent être regroupés dans cette catégorie.

-Un dernier groupe se distingue nettement des précédents en formant des thalles très touffus du fait d'un mycélium aérien très dense se développant largement au-dessus de la surface du milieu de culture. Les 5 clones qui présentent



1. isolat Pil du piment. Mycélium rare, sporulation abondante.
2. isolat Agl de l'aubergine locale. Mycélium ras, sporulation faible.
3. isolat Av de l'avocatier. Mycélium cotonneux, sporulation abondante.
4. isolat Ca du cacaoyer. Mycélium foisonnant, sporulation faible.



Types "plus" et "minus" de *Glomerella cingulata*, isolat Cfl du caféier.

Planche I. Différents faciès cultureux observés dans la collection  
des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* de Côte d'Ivoire.

cette caractéristique se distinguent également par la rareté des acervules.

Ces différences morphologiques, significatives pour les isolats étudiés ici, semblent correspondre à une constante dans le genre *Colletotrichum* puisqu'elles ont été soulignées à plusieurs reprises notamment chez le *C. indicum* (RAYNAL 1970) et surtout chez le *C. gloeosporioides* (RAMSEY et al. 1951, MUTHAPPA 1974, LII JANG LIU 1972) et la forme parfaite *Glomerella cingulata* (STIPES 1965, FOLLIN 1969).

#### -Les fructifications asexuelles

L'aptitude à produire des spores asexuelles est très variable selon les isolats. D'une manière générale, les premières fructifications apparaissent sur les jeunes thalles après trois à quatre jours de culture. Les conidies sont produites à l'extrémité de conidiophores regroupés au sein d'acervules ou, plus rarement, sur des conidiophores aériens isolés comme c'est le cas chez les isolats présentant un mycélium aérien très développé.

Les acervules sont de forme et de taille variables selon la structure du stroma dont ils sont issus. Celui-ci peut être diffus et presque indifférencié ou, au contraire, de structure pseudoparenchymateuse très compacte. De plus, les acervules peuvent être isolés et plus ou moins également répartis à la surface du thalle ou regroupés en glomérules. Enfin, dans les conditions expérimentales de cette étude, la présence de soies au sein des acervules est un caractère constant chez un certain nombre d'isolats.

Partant de ces observations, trois caractères ont été retenus pour effectuer la comparaison des individus.

-l'aptitude à la sporulation, qui se traduit par un effet de quasi tout-ou-rien, permet de distinguer deux catégories d'importance sensiblement égale. Seize isolats produisent très peu de conidies tandis que dix-huit sont capables de sporuler abondamment.

-la forme et la répartition des acervules sur le thalle confèrent un aspect cultural caractéristique. Sur l'ensemble de la collection, on peut en

effet distinguer trois types de culture que l'on considère comme trois états différents du caractère. Il y a les isolats, au nombre de dix-neuf, qui présentent des acervules peu différenciés, sans stroma apparent. Ceux-ci peuvent être confluents chez les clones ayant une sporulation abondante. Le deuxième type, regroupant douze isolats, se caractérise par des acervules volumineux et coalescents, érigés en forme de coupe sur un stroma bien différencié de structure pseudoparenchymateuse. Enfin, le troisième type, plus rare puisqu'il est représenté par trois isolats, correspond à des acervules de forme régulière de 1 à 2 mm de diamètre, naissant sur un stroma très dense, érigés en forme de colonettes cylindriques. Ces acervules sont non coalescents, nombreux et régulièrement répartis à la surface du thalle.

-la présence de soies au sein des acervules, comme les caractères précédants, ne constitue pas un critère systématique de l'espèce *C. gloeosporioides*. De plus, leur formation peut dépendre des conditions de milieu. Cependant, sur le milieu à l'extrait de Malt utilisé ici, le meilleur substrat pour l'étude des caractères culturels d'après STEPHAN (1967) et, dans les conditions de culture maintenues tout au long de l'expérimentation, les soies constituent un caractère constant et distinctif pour quatorze de nos isolats. Du fait d'une importante variabilité au sein d'un même thalle, aucune donnée biométrique n'a été retenue pour différencier les individus selon la taille des soies. Les autres isolats ont toujours présenté des acervules glabres.

#### -Les fructifications sexuelles

Parmi les clones issus des isolements effectués en Côte d'Ivoire, la forme parfaite *Glomerella cingulata* est apparue spontanément en culture chez quinze isolats. Les périthèces sont parfaitement développées cinq à six jours après l'implantation sur le milieu de culture. Rassemblés en glomérules, ils sont ostiolés de couleur brun-noir, de dimensions variables étant données les formes irrégulières qui résultent de l'association en glomérules. Leur taille varie de 200 à 450  $\mu$ m en longueur sur 100 à 230  $\mu$ m en largeur. Les variations enregistrées pour ces mesures sont du même ordre entre les périthèces d'un même thalle et ceux d'individus différents.

A maturité, les fructifications contiennent des asques allongés ,





Périthèce de l'isolat P110 du palmier à huile.



Bouquet d'asques et ascospores de l'isolat Cf1 du caféier.

pourvus d'une membrane hyaline d'aspect mucilagineux, qui renferment huit ascospores également hyalines, légèrement arquées, disposées en deux files irrégulières. La moyenne des mensurations calculée sur un échantillon de trente ascospores pour chaque isolat, s'établit entre  $17,3 \mu\text{m} \pm 0,6$  et  $20,2 \mu\text{m} \pm 0,8$  pour la longueur, entre  $6,2 \mu\text{m} \pm 0,2$  et  $7,9 \mu\text{m} \pm 0,3$  pour la largeur.

Une souche isolée du papayer (Pp5) se distingue des autres *Glomerella* en donnant naissance à de nombreux périthèces partiellement fertiles avec des asques à 2,4 ou 8 ascospores de taille très variable. Il s'agit probablement d'un mutant du type "dwarf" décrit par WHEELER et DRIVER (1953), caractérisé par la production d'asques partiellement avortés.

Par ailleurs, afin de vérifier la fertilité de nos souches sexuées, nous avons effectué à partir de chacune d'elles, des cultures d'ascospores isolées. Toutes les descendance étudiées donnent naissance à la forme sauvage parentale de type "plus" et à la forme "minus" d'EDGERTON (1914).

Les caractères morphologiques étudiés dans ce chapitre sont ceux de la forme sauvage. Seule la présence ou l'absence de la forme sexuée en culture pure a été retenue pour distinguer les différents isolats de notre collection.

## 1.2. LES CARACTERES QUANTITATIFS

### -Mensurations des conidies

La taille des spores asexuelles est un caractère assez variable chez les espèces de *Colletotrichum* à spores droites. SIMMONDS (1965) souligne que le relevé des valeurs extrêmes entraîne inévitablement des recouvrements qui rendent la délimitation spécifique peu précise. Chez le taxon *C. gloeosporioides*, les dimensions moyennes des conidies se situent entre 12 et  $19 \mu\text{m}$  pour la longueur, 4 à  $6 \mu\text{m}$  pour la largeur d'après Von ARX (1957).

Les mesures relevées ici portent sur un échantillon de trente spores pour chaque isolat. Les données recueillies sont exprimées par la moyenne des valeurs et l'intervalle de confiance et représentées dans la figure 2.

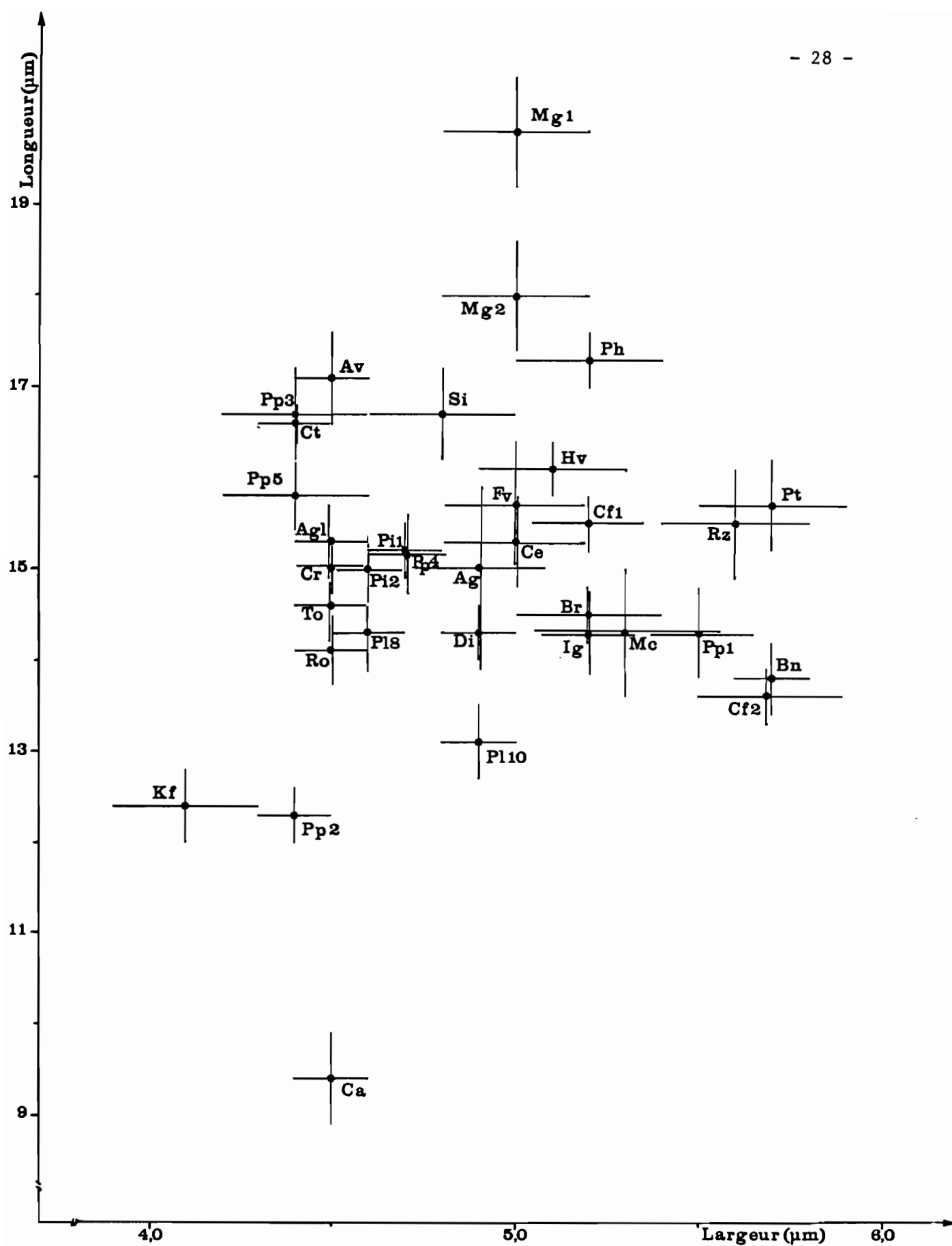


Figure 2. Mensurations des conidies des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides*.

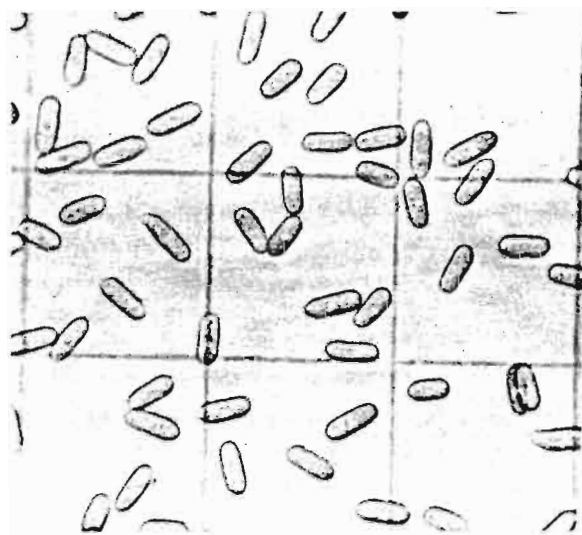
Représentation schématique des moyennes et de leur intervalle de confiance. (extrait de LOURD et al. 1979).

50  $\mu$



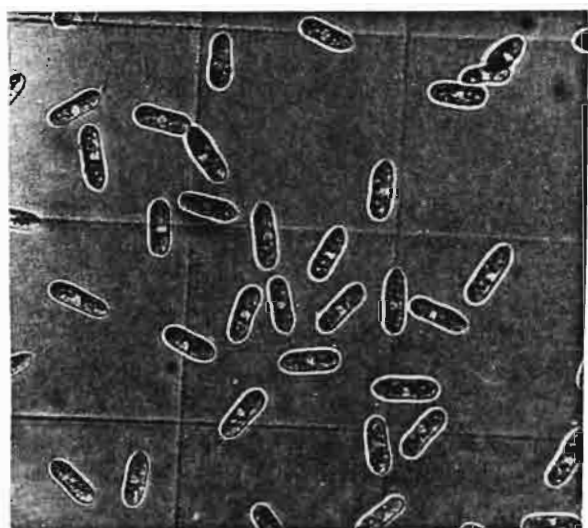
Isolat Bn du bananier

50  $\mu$



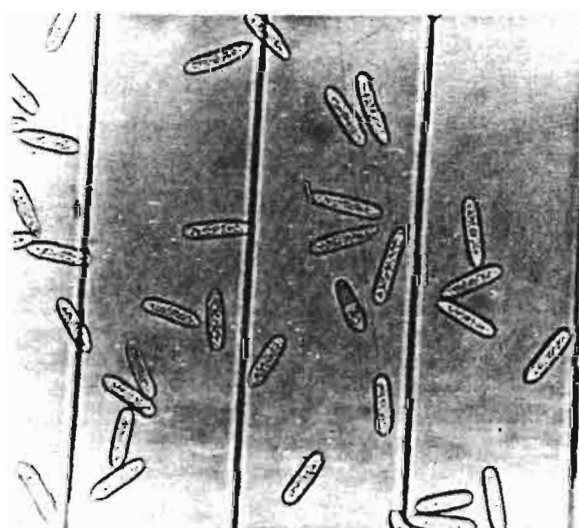
Isolat Ig de l'iguane

50  $\mu$



Isolat Cr du Croton

50  $\mu$



Isolat MgI du mangrove

Planche III. Conidies de différents isolats de  
Colletotrichum gloeosporioides

L'ensemble des isolats, à l'exception de celui issu du cacaoyer (Ca), se situe dans l'intervalle des valeurs admises par Von ARX.

L'analyse de variance donne les résultats suivants :

Tableau 3 : Comparaison des mensurations des conidies de 34 isolats de  
*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

Origine de la variation	ddl	Longueur des conidies			Largeur des conidies		
		SCE	CM	F	SCE	CM	F
Entre isolats	33	3298,61	99,96	60,95 <sup>(1)</sup> **	196,76	5,96	31,37 <sup>(1)</sup> **
Résiduelle	986	1621,49	1,64		189,82	0,19	
Totale	1019	4920,00			386,58		

(1) : significatif au seuil de 1 p.100

Des différences très hautement significatives existent entre les isolats sur la base des données relatives aux mensurations des spores asexuelles. La comparaison des moyennes effectuées à l'aide de la méthode de NEWMAN et KEUL (DAGNELIE 1975) confirme la conclusion de l'analyse de variance en permettant de distinguer cinq groupes d'isolats significativement différents pour les mesures de longueur des conidies. Un groupe central réunit vingt-neuf isolats dont les valeurs moyennes se répartissent entre 13,09 $\mu$ m et 17,26 $\mu$ m (groupe 3 de la matrice de description). Indépendamment de cet ensemble se détachent des isolats caractérisés par des conidies courtes : Ca de longueur moyenne= 9,35 $\mu$ m (groupe 1), Pp2 et Kf de longueur

moyenne= 12,32 $\mu$ m et 12,35 $\mu$ m respectivement (groupe 2); et des isolats possédant des conidies longues : Mg2 de dimension moyenne= 18,00 $\mu$ m (groupe 4) et Mg1=19,75 $\mu$ m (groupe 5).

Le même calcul effectué sur les mesures de largeur des conidies montre que les valeurs extrêmes sont significativement différentes, mais les recouvrements qui s'opèrent de proche en proche lors des comparaisons de moyennes deux à deux ne permettent pas d'isoler des groupes individualisés. Les valeurs qui se répartissent entre 4,09 $\mu$ m et 5,68 $\mu$ m s'inscrivent d'ailleurs parfaitement dans les données de la diagnose de Von ARX.

Seul le caractère de longueur des spores sera donc intégré dans l'analyse et pris en compte pour la comparaison des isolats de *C. gloeosporioides*.

#### -Vitesse de croissance mycélienne

La croissance des thalles cultivés en boîtes de Pétri est évaluée quotidiennement par la mesure de deux diamètres perpendiculaires dont la valeur moyenne est retenue. Les résultats définitifs correspondent à la moyenne de cinq répétitions pour chacune des six températures (20-25-27-30-32-35°C) auxquelles les thalles ont été soumis.

Le profil des courbes de croissance établies après six jours de culture (fig.3) est très comparable pour l'ensemble des isolats. La croissance est maximale à 27°C dans la majorité des cas alors qu'elle diminue très sensiblement à 32°C pour devenir très faible ou nulle à 35°C.

Seule la vitesse de croissance permet de distinguer les isolats. L'étude comparative est réalisée sur les valeurs diamétrales après six jours de culture à 27°C (tableau 4).

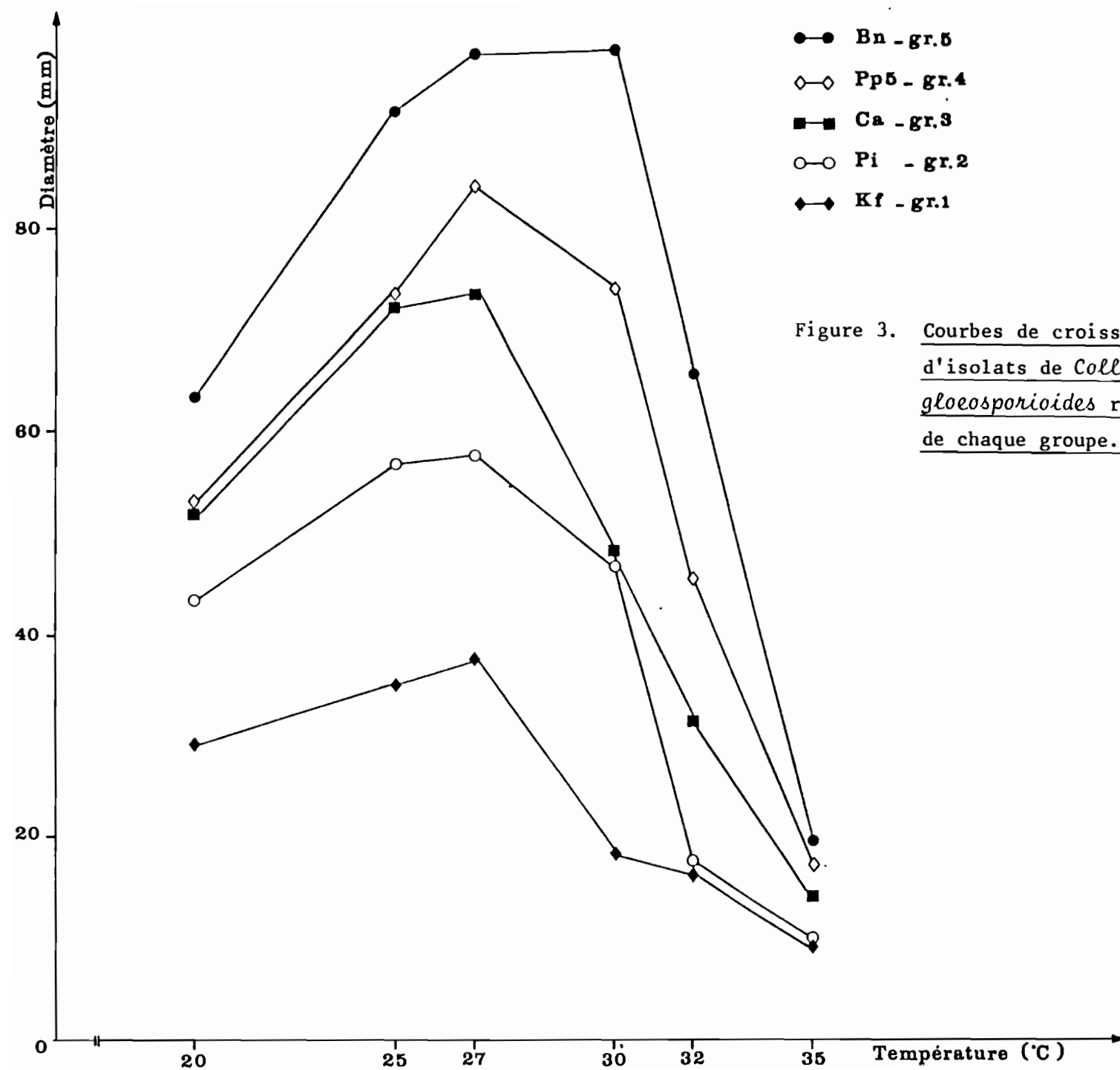


Figure 3. Courbes de croissance  
d'isolats de *Colletotrichum*  
*gloeosporioides* représentatifs  
de chaque groupe.

Tableau 4 : Comparaison des vitesses de croissance à 27°C de différents isolats de *C. gloeosporioides*

Nature de la variation	ddl	SCE	CM	F
Entre isolats	33	24183,88	732,84	(1) 134,47**
Résiduelle	136	741,00	5,45	
Totale	169	24924,88		

(1) Significatif au seuil de 1 p.100

La comparaison des moyennes par la méthode de NEWMAN et KEULS permet de séparer cinq groupes significativement différents dans les conditions de l'expérience. Le groupe 1 ne comporte que la souche kénaf (Kf) caractérisée par une vitesse de croissance à 27°C très lente par rapport à l'ensemble des autres isolats. Le groupe 2 comporte trois isolats, les groupes 3, 4, et 5 réunissent respectivement quinze, treize et deux isolats (voir matrice de description, tableau 6).

### 1.3. SYNTHESE DES DONNEES ET DISCUSSION

A partir de l'ensemble des données codées (tableau 5) et ordonnées dans la matrice de description (tableau 6), le degré de ressemblance des individus, confrontés deux à deux, est calculé à l'aide de l'indice de ROGERS et TANIMOTO. La matrice de similarité obtenue regroupe les valeurs de l'indice à partir desquelles est construit le dendrogramme par regroupements successifs des individus puis groupes d'individus les plus ressemblants.



Tableau 5 : Codification des caractères morphologiques et cultureux

Caractères	Code des états possibles				
	1	2	3	4	5
A (mycélium aérien)	ras	cotonneux moyen	foisonnant dense		
B (sporulation)	faible ou nulle	abondante			
C (acervules)	petits sans stroma	petit avec stroma	grands en glomérules		
D (soies)	absentes	présentes			
E (périthèces)	absents	présents			
F (longueur conidies)	groupe 1	2	3	4	5
G (croissance mycélienne)	groupe 1	2	3	4	5

Tableau 6 : Matrice de description isolats/caractères (les chiffres indiquent l'état présenté pour chaque caractère selon la codification).

Isolats	Caractères						
	A	B	C	D	E	F	G
Ag	2	1	3	1	2	3	4
Ag1	1	1	1	1	1	3	4
Av	2	2	1	2	1	3	3
Bn	1	2	3	1	1	3	5
Br	1	2	2	2	1	3	3
Ca	3	1	1	1	1	1	3
Ce	2	1	3	1	2	3	4
Cf1	3	1	3	2	2	3	4
Cf2	2	1	1	1	1	3	3
Cr	2	1	1	1	1	3	4
Ct	1	2	1	2	1	3	4
Di	3	1	3	2	2	3	4
Fv	2	1	3	1	2	3	4
Hv	1	2	1	2	1	3	4
Ig	2	1	1	1	2	3	4
Kf	2	2	1	1	1	2	1
Mc	1	2	1	1	2	3	2
Mg1	2	1	3	1	1	5	3
Mg2	2	2	3	1	1	4	3
Ph	2	2	3	2	1	3	4
Pil	1	2	1	2	1	3	2
Pi2	1	2	2	2	2	3	3
P18	2	1	3	1	2	3	3
P110	1	2	3	1	2	3	2
Pp1	2	1	1	1	2	3	4
Pp2	2	2	1	2	2	2	3
Pp3	1	2	1	2	1	3	3
Pp4	2	2	1	2	2	3	3
Pp5	2	1	3	2	2	3	4
Pt	2	2	1	1	1	3	3
Ro	1	2	2	1	1	3	3
Rz	1	2	1	2	2	3	3
Si	3	1	1	1	1	3	3
To	3	1	1	1	1	3	5

A la lecture du dendrogramme (fig.4), on peut distinguer trois groupes d'isolats d'importance inégale, relativement individualisés à différents niveaux de l'indice de similarité.

Le groupe A réunissant neuf isolats apparaît le plus nettement délimité pour une valeur de l'indice proche de 0,5.

Les groupes B et C comprenant respectivement onze et quatorze individus, définis pour des valeurs de l'indice beaucoup plus faibles, apparaissent peu structurés et témoignent d'une variabilité phénotypique importante.

Cette première approche, purement descriptive, montre combien les types cultureux sont diversifiés dans l'espèce *C. gloeosporioides* tant en ce qui concerne les caractères morphologiques proprement dits que les données biométriques, comme le constate STEPHAN (1967) par ailleurs. Bien qu'il semble difficile de dégager des entités réellement homogènes de cet ensemble étant donné l'importante variabilité intra-groupe, il est possible de déterminer les caractères les plus significatifs dans chacun des groupes.

Ainsi, le groupe A réunit des isolats qui possèdent tous la forme sexuée en culture pure et présentent simultanément la particularité de ne pas produire, ou de façon très faible, de spores asexuelles. A l'opposé, les isolats du groupe C ont en commun la faculté de produire des conidies en abondance. Cette aptitude, que l'on peut considérer comme le descripteur principal du groupe C, n'exclut pas l'existence de la forme sexuelle qui se retrouve chez six isolats de ce groupe. Il semble donc que ces deux caractères soient indépendants.

Dans le groupe B sont réunis des isolats dont la combinaison des caractères est telle qu'aucun "marqueur" morphologique n'apparaît déterminant.

Le dendrogramme établi à partir de cette première analyse intégrant un ensemble de caractères morphologiques et cultureux fait donc apparaître en premier lieu la diversité phénotypique qui peut exister chez les isolats rattachés au taxon *C. gloeosporioides*. Cette diversité est traduite par la structure même du dendrogramme où les branchements s'effectuent à des niveaux faibles de l'indice de similarité. Elle est également apparente dans le fait qu'un groupe

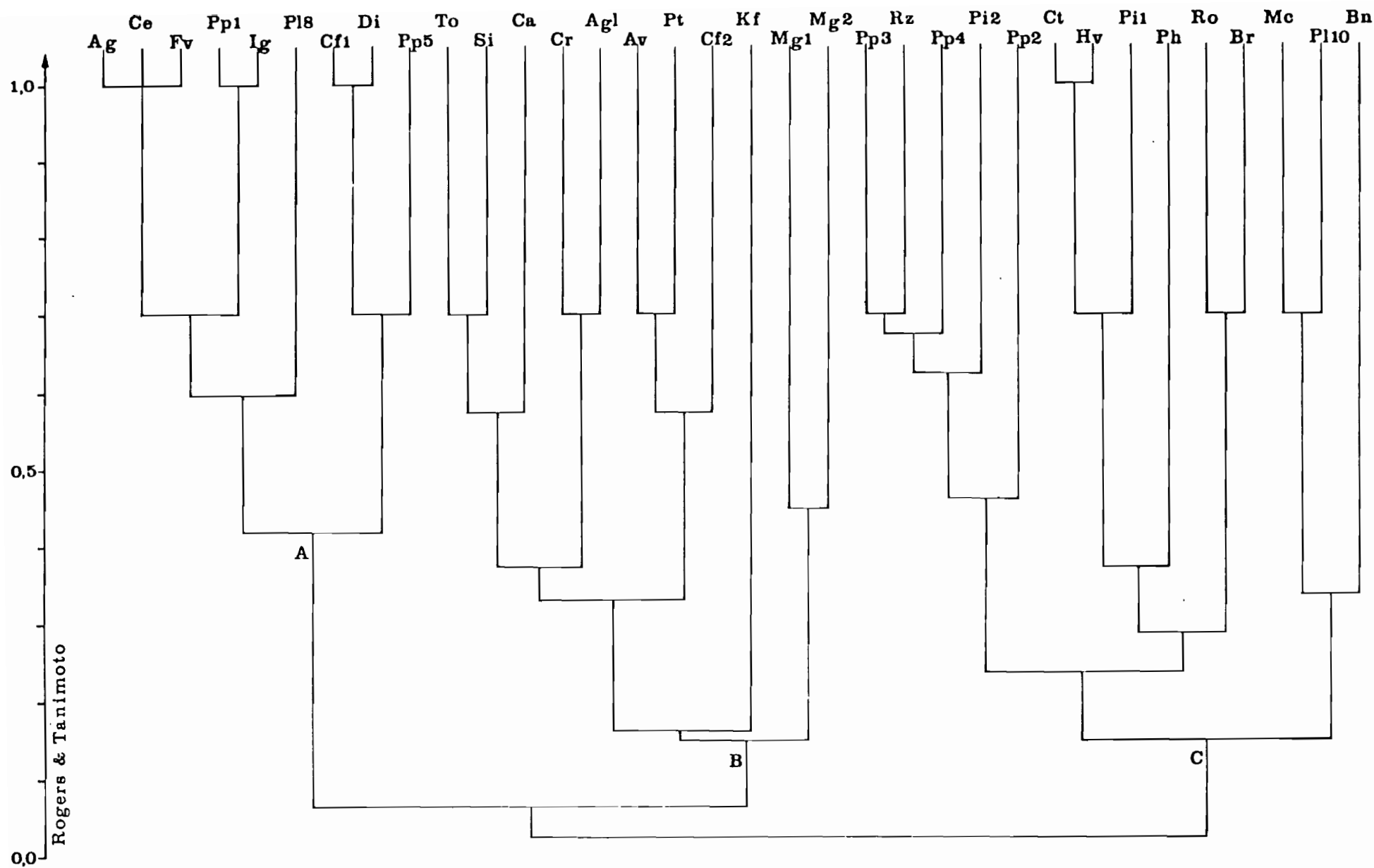


Figure 4. Dendrogramme des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* établi à partir des caractères morphologiques et cultureux.

important d'individus (groupe B du dendrogramme) ne présente aucun caractère descripteur majeur.

Sans apporter d'argument déterminant en vue d'une classification, l'existence de deux autres groupes fait apparaître des tendances de différenciation morphologiques s'appuyant respectivement sur l'aptitude à la reproduction sexuelle et la faculté de produire des conidies en grand nombre.

Cette distinction entre les deux ensembles considérés ne conduit pas, cependant, à séparer les *Colletotrichum* sensu stricto des *Glomerella* puisque ces derniers peuvent se répartir dans les deux groupes. Les deux tendances que nous observons ne correspondent donc pas à une séparation taxonomique des genres *Colletotrichum* et *Glomerella*.

Par ailleurs, l'étude de la composition des différents groupes du dendrogramme nous amène à faire un certain nombre de remarques d'ordre biologique. Il apparaît en effet que les regroupements sont totalement indépendants de l'origine géographique des isolats ou de la plante hôte dont ils sont issus. L'analyse des seuls caractères morphologiques ne permet pas de caractériser d'éventuels écotypes ou formes géographiques pas plus qu'elle ne conduit à la séparation d'isolats provenant de la même plante ou de la même famille de plantes. Cette observation va tout à fait à l'encontre des données de la classification ancienne dans laquelle les espèces étaient essentiellement déterminées par l'association des caractères morphologiques et de la plante hôte d'origine.

Les informations recueillies ici, en l'absence de considérations physiologiques ou pathologiques, montrent que des isolats ayant des caractéristiques morphologiques très voisines peuvent provenir de plantes et de familles botaniques très diverses. Ceci est particulièrement évident dans le groupe A, morphologiquement le plus homogène, qui associe des isolats aussi éloignés dans leur origine que ceux de l'aubergine, du caféier, de l'igname et du palmier par exemple.

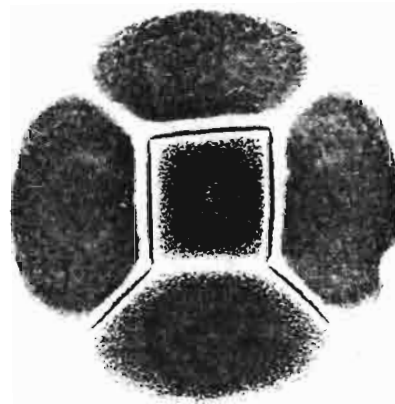
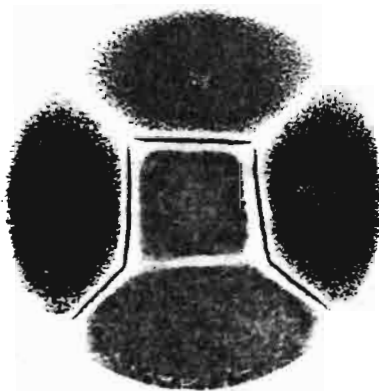
Inversement, plusieurs souches isolées d'un même hôte peuvent présenter des caractéristiques très différentes comme le montrent les isolats du caféier, du palmier et du papayer. Chez ce dernier, les différences observées concernent même des individus d'une même population pathogène puisque les trois



Production de conidies à partir d'hyphes latérales chez l'isolat Di du *Diffenbachia*.



Asques avortés ou partiellement fertiles chez l'isolat Pp5 du papayer.



Mise en évidence par éclairage indirect des lignes de périthèces hybrides issus de la confrontation entre thalles "plus" et "moins" de l'isolat Cf1 du caféier.

isolats Pp3, Pp4 et Pp5 ont tous été collectés sur fruit dans une seule plantation à Dabakala. Ces observations sur la variabilité morphologique du *C. gloeosporioides*, qu'il s'agisse d'individus de différentes origines ou d'une même population pathogène, sont parfaitement en accord avec les données recueillies par ailleurs sur les *Colletotrichum* de l'hévéa (WASTIE et SANKAR 1970), de l'aubergine (FOURNET 1973) ou du caféier (HINDORF 1973).

En conclusion de ce premier volet de notre étude, nous pouvons considérer que les isolats étudiés rendent compte de l'important polymorphisme caractéristique du taxon *C. gloeosporioides* pris au sens de Von ARX. Au sein de la collection réunie en Côte d'Ivoire, nous pouvons seulement dégager des tendances à l'association de groupes déterminés par un caractère dominant mais pas de différenciation marquée vers des morphotypes distincts, significatifs de groupes biologiques ou pathologiques déterminés. Cette image est probablement représentative de la complexité de l'espèce *C. gloeosporioides* définie par Von ARX.

## 2. LES ISOLATS DE L'ESPECE *COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA* (CES.) WILSON

Les isolats étudiés ici et rapportés à l'espèce *C. graminicola* au sens de Von ARX (1957) sont au nombre de huit (tableau 2). Six d'entre eux ont été collectés en Côte d'Ivoire sur canne à sucre, sorgho et maïs. Les deux autres isolats proviennent de la collection de C.M. MESSIAEN (MF et SoG).

L'étude des caractéristiques morphologiques de ces isolats est conduite parallèlement à la précédente, selon les mêmes principes dans la recherche de caractères stables et discriminants.

Après purification des souches par culture monospore, les clones sont cultivés sur le milieu à l'extrait de Malt gélosé dans les conditions exposées au chapitre des méthodes.

La comparaison des individus porte sur cinq caractères : l'aspect du mycélium aérien, la couleur du revers de la culture, la longueur et la largeur des conidies et la croissance mycélienne.

Deux caractères cultureux seulement sont pris en compte étant donnée la relative faiblesse de la diversité phénotypique chez les isolats étudiés. Comparativement à l'espèce précédente, l'examen des fructifications sexuelles, de leur forme, de leur répartition et de leur nombre ne donne lieu à aucune différence significative entre les isolats. Dans leur ensemble, ils sporulent peu sur milieu synthétique, en formant de petits acervules peu différenciés sans stroma bien visible, tous pourvus de soies dressées de couleur brun-noir.

Par ailleurs, la forme sexuée n'a jamais été observée en culture pure sur aucun des isolats de notre collection, même sur des thalles âgés.

## 2.1. LES CARACTERES CULTURAUX

### -L'aspect du thalle

En culture pure, le mycélium présente des aspects variables aussi bien chez les isolats de la même plante hôte que ceux issus de plantes différentes. Le caractère le plus remarquable qui permet de distinguer les isolats se rapporte au faciès de la culture. Ainsi, trois types cultureux peuvent être nettement identifiés à l'observation.

Le premier est caractérisé par des thalles présentant un mycélium aérien ras, très peu développé, presque adhérent à la surface du milieu de culture. Ce type morphologique correspond aux isolats Cs1 et CsF.

Le faciès le plus représenté, commun aux isolats Cs2, Cs3, SoG, Mi et MF, est caractérisé par un mycélium aérien très abondant, d'aspect cotonneux et foisonnant, largement développé au-dessus de la surface du substrat.

Enfin, la souche So se différencie de l'ensemble en formant un mycélium aérien irrégulier dans son développement, constitué de mèches éparses au milieu d'une structure mycélienne d'aspect arachnéen.

Les isolats étudiés ici feront donc l'objet d'un premier classement sur la base de trois états différents du caractère se rapportant à l'aspect du



thalle (tableau 9).

#### -La couleur de la culture

Le caractère de couleur de la culture a été retenu car il ne souffre aucune ambiguïté. En effet, certains isolats de l'espèce *C. graminicola* ont la particularité de produire un pigment diffusant dans le milieu de culture. Cette propriété est remarquable chez l'isolat du Sorgho (So) de Côte d'Ivoire dont le thalle est fortement coloré en jaune orangé.

Les souches provenant du maïs, quelle que soit leur origine géographique, présentent un thalle typiquement violacé au revers de la culture.

A l'opposé, les isolats Cs2, Cs3, CsF et SoG développent un thalle blanc à gris clair sans pigmentation particulière.

Enfin, l'isolat Csl peut être distingué, dans la collection étudiée ici, grâce à la coloration gris foncé du thalle, presque noir dans les parties les plus âgées. Dans ce cas, il s'agit seulement d'une pigmentation des parois du mycélium sans diffusion dans le substrat.

Quatre états différents sont pris en compte pour ce caractère dans la description des individus (tableau 9).

## 2.2. LES CARACTERES QUANTITATIFS

#### -Mensuration des conidies

Les conidies de l'espèce *C. graminicola* sont typiquement allongées régulièrement arquées aux extrémités arrondies mais effilées, hyalins et unicellulaires. Von ARX et MULLER (1954) donnent  $22-38\mu\text{m} \times 4-7\mu\text{m}$  comme dimensions moyennes. D'autres auteurs qui maintiennent la séparation entre *C. falcatum* spécifique de la canne à sucre, et *C. graminicola* inféodé aux autres Graminées, donnent

des mensurations légèrement différentes pour ces deux espèces. Ainsi SPRAGUE (1950) donne les étendues de variation suivantes : 20-27  $\mu\text{m}$  x 4-5  $\mu\text{m}$  chez *C. falcatum* et 18-26  $\mu\text{m}$  x 3-4  $\mu\text{m}$  chez *C. graminicola*, tandis que ROGER (1954) note pour ces deux espèces respectivement 25-30  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$  et 16-22  $\mu\text{m}$  x 3-5  $\mu\text{m}$ .

Les données que nous avons recueillies sur les isolats de notre collection sont exprimées par la moyenne et l'intervalle de confiance des mesures effectuées sur des échantillons de trente spores (illustrées à la figure 5).

L'ensemble des valeurs obtenues s'inscrit dans l'intervalle des mensurations admises par Von ARX. L'analyse de variance donne les résultats suivants :

Tableau 7 : Comparaison des mensurations des conidies de huit isolats de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson.

Origine de la variation	ddl	Longueur des conidies			Largeur des conidies		
		SCE	CM	F	SCE	CM	F
Entre isolats	7	1882,58	268,94	(1) 30,84**	60,48	8,64	(1) 32,00**
Résiduelle	232	2023,04	8,72		62,64	0,27	
Totale	239						

(1) : significatif au seuil de 1 p.100

Si les différences sont hautement significatives entre les isolats, il ne semble pas y avoir de discrimination nette entre les individus issus de canne à sucre et ceux issus de sorgho et de maïs sur le caractère de longueur des conidies. La séparation apparaît plus nette sur les mesures de la largeur.

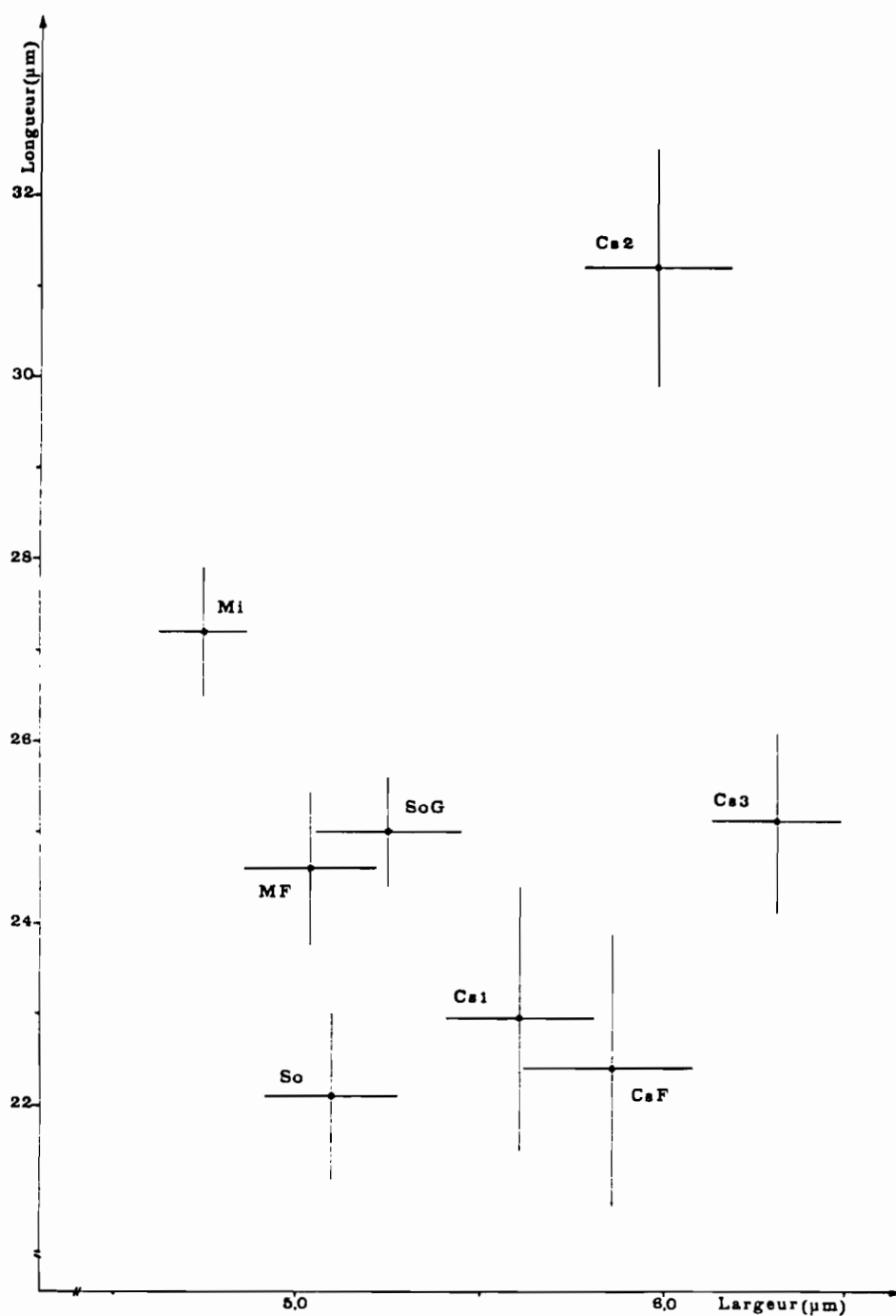
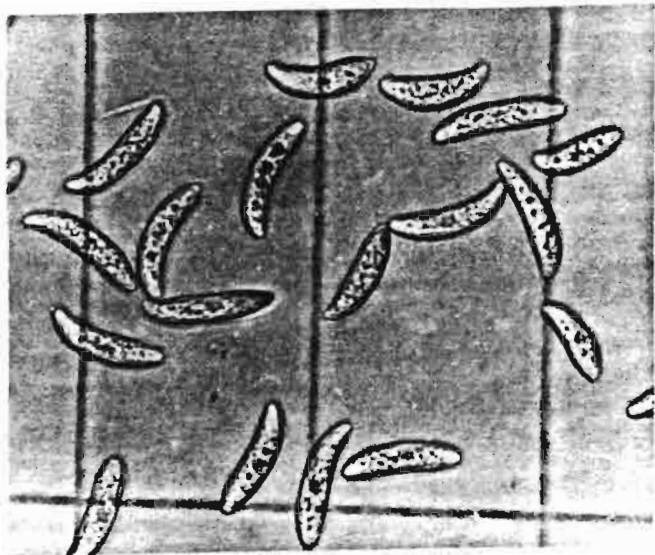


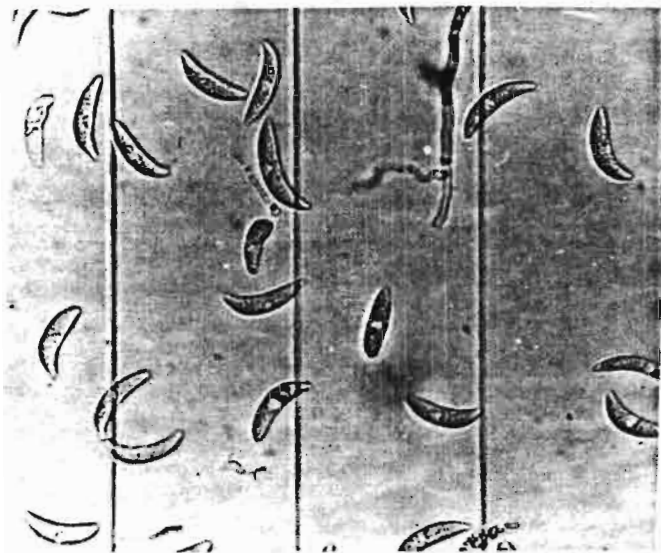
Figure 5. Mensurations des conidies des isolats de *Colletotrichum graminicola*.  
Représentation schématique des moyennes et de leur intervalle de confiance.

50  $\mu$



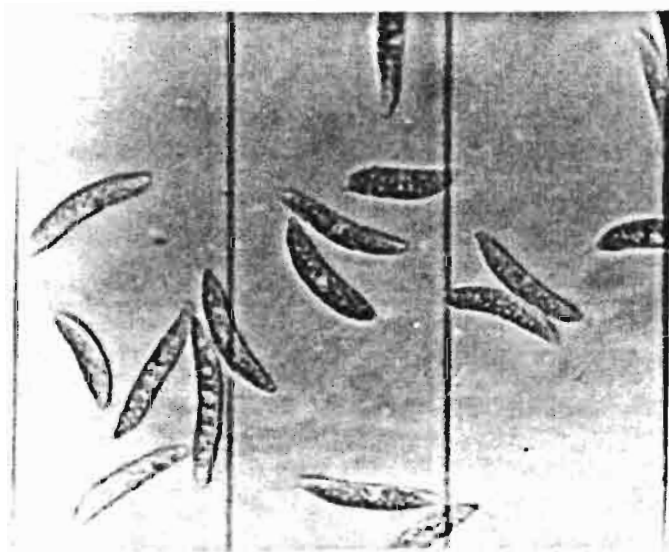
Isolat Cs3 de la canne à sucre.

50  $\mu$



Isolat So du sorgho.

50  $\mu$



Isolat Cs2 de la canne à sucre.

De façon à préciser ces résultats et à procéder à un classement des isolats, la comparaison des moyennes a été effectuée selon la méthode de NEWMAN et KEULS (DAGNELIE 1975).

Quatre groupes sont distingués sur les valeurs de la longueur des spores :

entre 22 et 23  $\mu\text{m}$  = isolats So CsF et Cs1  
entre 24 et 26  $\mu\text{m}$  = isolats MF, SoG et Cs3  
entre 26 et 28  $\mu\text{m}$  = isolats Mi  
supérieur à 30  $\mu\text{m}$  = isolats Cs2

Pour les valeurs de largeur des conidies, quatre groupes sont également considérés comme significativement différents :

entre 4,5 et 5,0  $\mu\text{m}$  = isolat Mi  
entre 5,0 et 5,5  $\mu\text{m}$  = isolats MF, So et SoG  
entre 5,5 et 6,0  $\mu\text{m}$  = isolats Cs1, CsF et Cs2  
supérieur à 6,0  $\mu\text{m}$  = isolat Cs3

Ces deux caractères quantitatifs attachés aux spores asexuelles entreront donc pour une part dans la description de chacun des individus.

#### -Croissance mycélienne

De la même façon que précédemment, la vitesse de croissance mycélienne, en condition de culture "in vitro", est évaluée quotidiennement par la mesure de deux diamètres perpendiculaires des thalles développés à partir d'implants calibrés. Les cultures ont été soumises à six températures différentes : 20-25-27-30-32 et 35°C afin de déterminer l'optimum de croissance. Les données retenues correspondent à la moyenne de cinq répétitions.

Les courbes de croissance obtenues après six jours de culture sont tout à fait comparables pour l'ensemble des individus. Par contre, la vitesse

de croissance traduite par le développement du thalle mesuré en millimètres (fig.6) diffère sensiblement selon les isolats. La comparaison sera effectuée sur cette mesure à la température optimale. Celle-ci est de 27°C pour la majorité des isolats sauf Mi et SoG dont l'optimum se situe à 30°C.

Le classement des souches est donc établi à partir des diamètres des thalles obtenus après six jours de culture à 27°C. L'analyse de variance des données conduit aux résultats suivants :

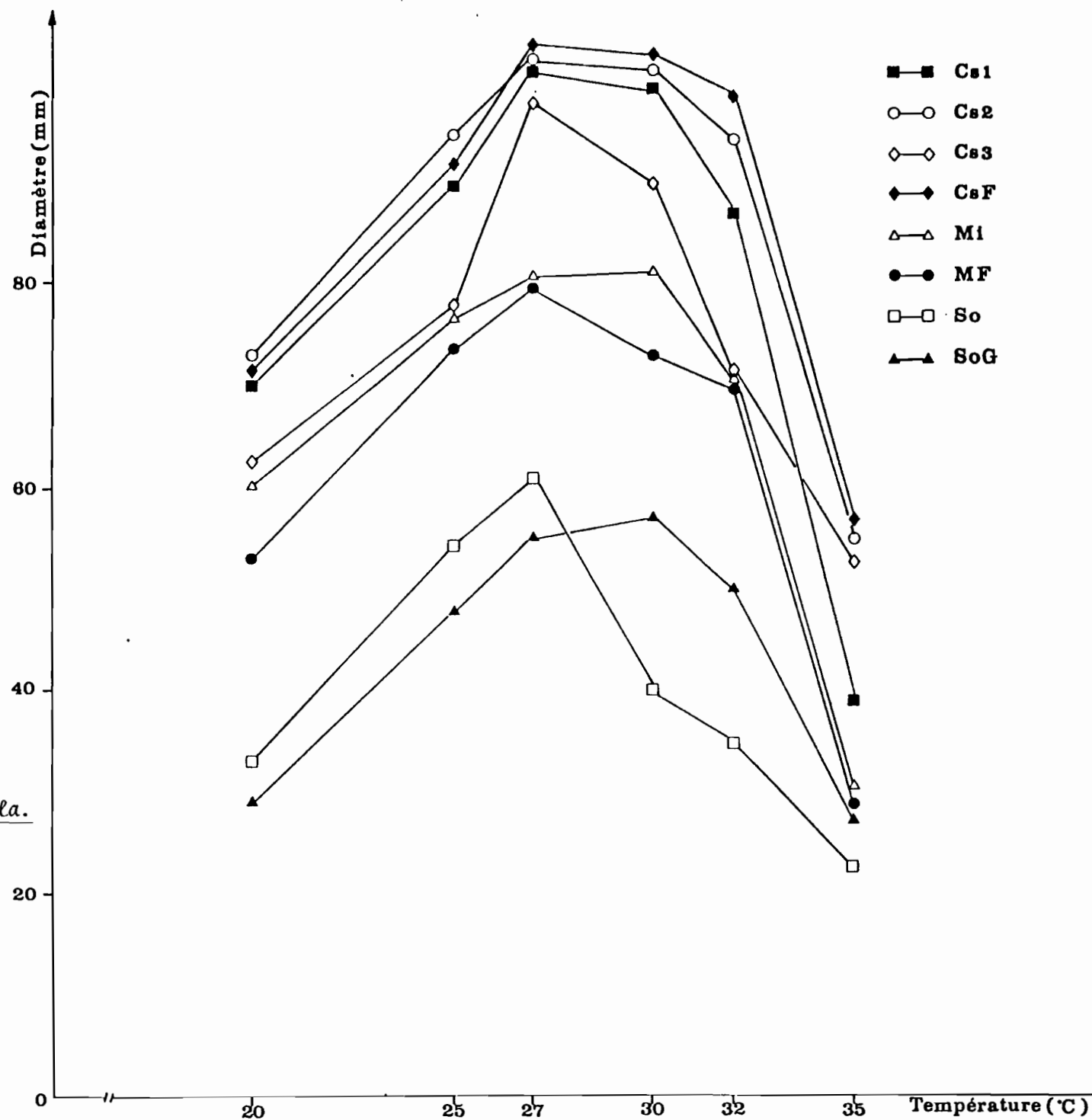
Tableau 8 : Comparaison de huit isolats de *C. graminicola* sur le diamètre du thalle après six jours de culture à 27°C.

Nature de la variation	ddl	SCE	CM	F
Entre isolats	7	12597,74	1799,68	(1) 666,55 **
Résiduelle	32	86,50	2,70	
Totale	39			

(1) : significatif au seuil de 1 p.100

Les différences très hautement significatives qui apparaissent à la suite de cette analyse proviennent du fait que les écarts sont très importants entre les extrêmes : isolats du sorgho à croissance lente et isolats de la canne à sucre dont le développement est beaucoup plus rapide. La comparaison statistique de ces écarts par le test de NEWMAN et KEULS permet de distinguer quatre groupes réunissant respectivement : les isolats canne à sucre, les

Figure 6.  
Courbes de croissance  
des isolats de  
*Colletotrichum graminicola*.



isolats maïs puis la souche sorgho de Côte d'Ivoire (So) et celle de Guadeloupe (SoG).

Ces groupes correspondent à ce que nous considérons comme des ensembles présentant différents états du même caractère.

Ce type d'analyse nous permet donc de traiter l'ensemble des données morphologiques de façon homogène sur des caractères discontinus à plusieurs états et d'appliquer ainsi l'indice de similarité de ROGERS et TANIMOTO. Toutes les caractéristiques des isolats étudiés sont réunies dans le tableau 9.

### 2.3. SYNTHESE DES DONNEES ET DISCUSSION

Le dendrogramme présenté à la figure 7 est établi à partir de la matrice de similarité de l'indice de ROGERS et TANIMOTO calculé entre tous les individus comparés deux à deux.

Deux ensembles apparaissent relativement individualisés au niveau 0,27 de l'indice de similarité tandis que l'isolat sorgho de Côte d'Ivoire (So) est rejeté à l'extérieur de ces deux structures.

Le premier ensemble regroupe les isolats de canne à sucre dont les caractéristiques paraissent suffisamment concordantes pour les individualiser par rapport aux autres isolats. Le caractère dominant de ce groupe est la vitesse de croissance mycélienne nettement plus importante que celle des isolats issus des autres graminées. Le fait que le niveau de raccordement du groupe se situe à une valeur relativement faible de l'indice de similarité indique cependant qu'il existe encore une certaine variabilité morphologique intra-groupe.

Le deuxième ensemble réunit les isolats du maïs et l'isolat sorgho de Guadeloupe qui ont deux caractéristiques communes : un mycélium aérien très développé en culture pure et des conidies dont la largeur n'excède pas 5,5  $\mu$ m. On remarque par ailleurs que la variabilité intra-groupe est encore importante et du même ordre que celle observée chez les isolats de canne à sucre.



Tableau 9 : Matrice de description des caractères phénotypiques des isolats de  
*Colletotrichum graminicola*

Caractères	Etats	Cs1	Cs2	Cs3	CsF	So	SoC	Mi	MF
Aspect du mycélium aérien	Ras	+	-	-	+	-	-	-	-
	Cotonneux-abondant	-	+	+	-	-	+	+	+
	Irrégulier	-	-	-	-	+	-	-	-
Couleur du revers de la culture	Incolore	-	+	+	+	-	-	-	-
	Gris foncé	+	-	-	-	-	-	-	-
	Violet	-	-	-	-	-	-	+	+
	Jaune	-	-	-	-	+	-	-	-
Longueur des spores	entre 22 et 23 $\mu$ m	+	-	-	+	+	-	-	-
	" 24 et 26 $\mu$ m	-	-	+	-	-	+	-	-
	" 26 et 28 $\mu$ m	-	-	-	-	-	-	+	+
	supérieur à 30 $\mu$ m	-	+	-	-	-	-	-	-
Largeur des spores	entre 4,5 et 5,0 $\mu$ m	-	-	-	-	-	-	+	-
	" 5,0 et 5,5 $\mu$ m	-	-	-	-	+	+	-	+
	" 5,5 et 6,0 $\mu$ m	+	+	-	+	-	-	-	-
	supérieur à 6,0 $\mu$ m	-	-	+	-	-	-	-	-
Diamètre du thalle à 5 j. de culture 27°C	inférieur à 60mm	-	-	-	-	-	+	-	-
	entre 60 et 75mm	-	-	-	-	+	-	-	-
	entre 75 et 90mm	-	-	-	-	-	-	+	+
	supérieur à 90mm	+	+	+	+	-	-	-	-

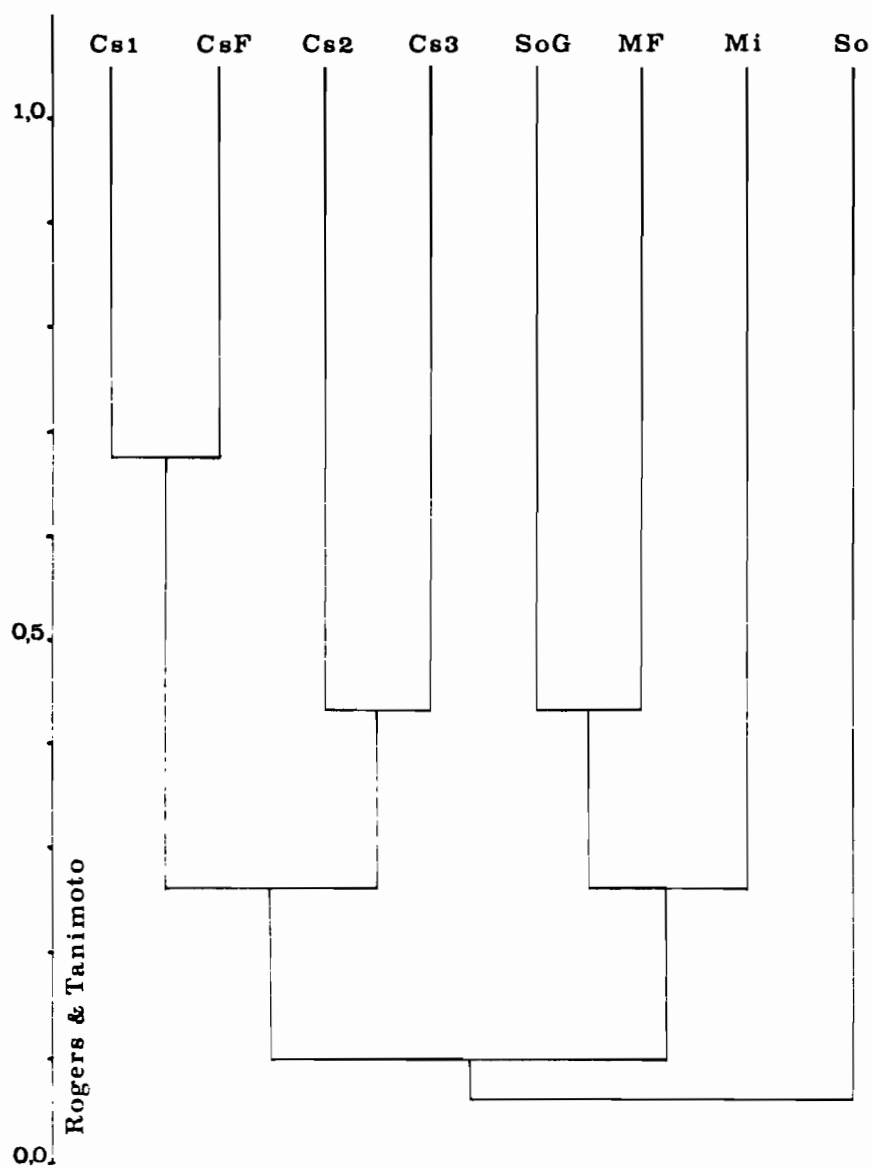


Figure 7. Dendrogramme des isolats de *Colletotrichum graminicola* établi à partir des caractères morphologiques et cultureux.

Enfin, l'isolat sorgho de Côte d'Ivoire s'individualise essentiellement à partir de deux caractéristiques qui lui sont propres : un mycélium aérien très irrégulier et un thalle fortement coloré en jaune par la production d'un pigment.

Cette première analyse permet de constater que les regroupements s'effectuent, au moins pour partie, sur la base de l'origine parasitaire des isolats.

Ainsi les isolats provenant de canne à sucre constituent un ensemble distinct à l'intérieur duquel, il est vrai, la variabilité reste notable puisque nous voyons sur le dendrogramme que les niveaux de raccordement intra-groupe sont proches du niveau de séparation des groupes.

On peut cependant admettre qu'une certaine différenciation, peut-être liée à l'origine parasitaire, est déjà perceptible chez le *C. graminicola*.

L'analyse des caractères morphologiques permet de révéler cette tendance mais les incertitudes que peuvent entraîner les variations phénotypiques nous incite à considérer que d'autres caractères doivent être pris en compte pour affiner la séparation des ensembles existants.

## CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES

### ETUDE PAR ÉLECTROPHORÈSE DE DIFFÉRENTES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES.

Nous avons abordé l'étude de marqueurs biochimiques dans le but d'obtenir des informations complémentaires sur la structure des deux complexes spécifiques réunis dans notre collection.

Les données acquises chez de nombreux micro-organismes ont montré que les techniques d'analyse électrophorétique des protéines offrent des possibilités de résolution intéressantes en matière de classification (CLARE 1963, GARBER et RIPPON 1968, HALL 1973). Leur utilisation a en particulier permis d'apporter certains arguments significatifs sur le niveau de séparation des espèces chez les champignons tels que les *Mucor* (STOUT et SHAW 1974) ou les *Phytophthora* (CLARE et ZENTMYER 1966, GILL et ZENTMYER 1978).

Chez le *Glomerella cingulata*, STIPES (1965) a montré qu'une certaine homogénéité spécifique était révélée par l'analyse des spectres protéiques totaux tandis que l'analyse d'activités enzymatiques permettait de mettre en évidence la variabilité intra spécifique.

Partant de ces données, nous avons cherché à caractériser les isolats à partir des spectres de protéines totales et de quelques activités enzymatiques.

Le choix de ces dernières repose essentiellement sur deux critères : la stabilité et la reproductibilité des spectres. Après de nombreux essais portant sur des hydrolases et des déhydrogénases, trois hydrolases ont été retenues :  $\alpha$ -estérases, leucyl-amino-peptidases et phosphatases acides parce qu'elles répondaient de façon satisfaisante aux critères de choix.

Par contre, l'analyse des spectres de protéines totales s'est heurtée à des difficultés d'ordre méthodologique liées au grand nombre de bandes et à leur migration relative très voisine. Seuls les protéinogrammes des isolats de *Colletotrichum graminicola* ont pu être exploités.

## 1. ÉTUDE DES PROFILS ENZYMATIQUES CHEZ LES ISOLATS DE COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES.

L'étude porte sur quarante isolats rapportés au taxon *C. gloeosporioides*. Pour chaque activité enzymatique révélée, les spectres sont confirmés par deux analyses successives portant sur l'ensemble des individus. Les résultats tiennent seulement compte de la présence des bandes et de leur migration relative par rapport au front.

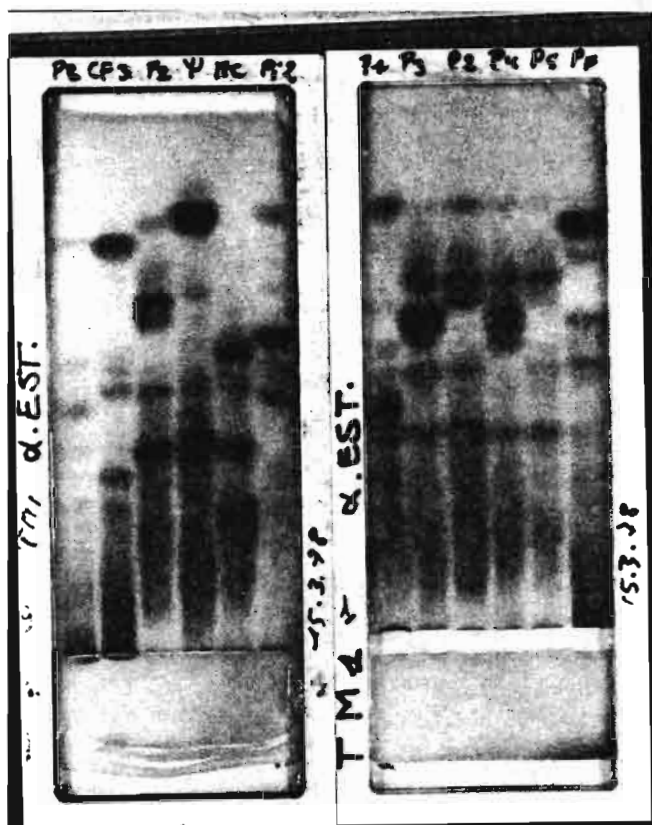
Ne disposant pas de lecteur de gel permettant une analyse qualitative et quantitative des électrophorégrammes, nous n'avons pas pris en considération l'intensité de coloration des bandes.

Deux isolats du papayer (Pp2 et Pp4) faisant office de témoins ont été placés soit indépendamment soit simultanément sur toutes les plaques, de façon à comparer l'ensemble des spectres aux mêmes bandes de référence. De plus, les mélanges d'isolats ont été effectués chaque fois que des individus présentaient des zymogrammes très voisins afin de repérer les bandes différentes de migration relative très proche.

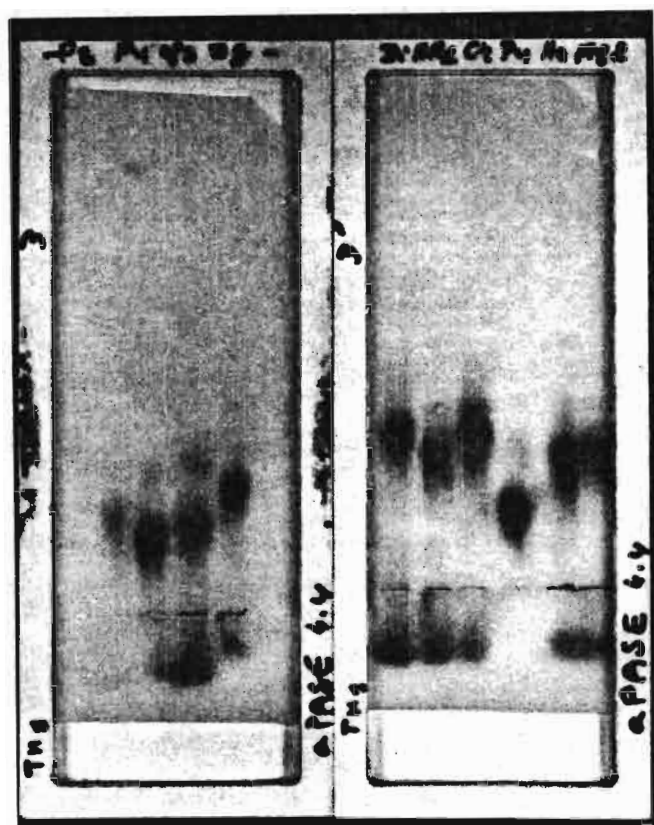
Pour la totalité de la collection, chaque individu est donc caractérisé par un ensemble de bandes qui constitue son profil pour une activité enzymatique donnée.

### 1.1. ACTIVITES $\alpha$ -ESTERASES.

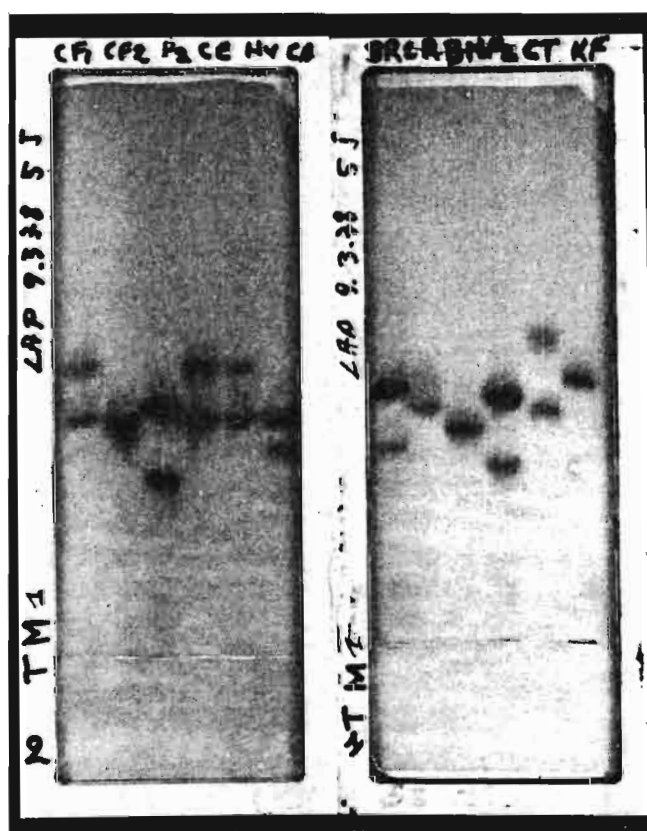
Les  $\alpha$ -estérases sont des hydrolases qui forment un complexe enzymatique



$\alpha$ -estérases



Phosphatases acides



Leucyl-amino-peptidases

Planche VI. Quelques exemples de zymogrammes obtenus par électrophorèse sur gel d'amidon (isolats de *Colletotrichum gloeosporioides*).

relativement hétérogène du fait de leur faible spécificité. Cette caractéristique apparaît nettement à la lecture des zymogrammes très diversifiés obtenus à partir des extractions effectuées sur des cultures âgées de cinq jours.

Le diagramme établi pour l'ensemble des isolats montre que seize bandes distinctes peuvent être localisées (fig.8). La zone comprise entre la ligne de dépôt de l'extrait et la bande 16 est le plus souvent rendue illisible par la présence de phénomènes de trainée. Elle n'a pas été prise en compte dans l'établissement des spectres enzymatiques. Ceux-ci, établis pour chaque individu, ont été schématisés et regroupés dans la figure 9 qui montre la grande diversité des profils obtenus.

Seuls les isolats de l'arachide (Ar) et de *Heliconia* (He) présentent des zymogrammes identiques. On constate par ailleurs qu'aucune bande n'est commune à l'ensemble des isolats; les bandes 3, 11 et 15, avec une fréquence d'apparition supérieure à 0,50, pouvant être considérées comme relativement représentatives de l'ensemble. Inversement, les bandes 1 et 13 sont les plus spécifiques car elles apparaissent chez quelques individus seulement.

Avec une moyenne de cinq bandes par individu et seize sites distincts, on peut considérer que l'analyse des activités  $\alpha$ -estérases traduit une importante variabilité à l'intérieur de l'ensemble étudié. Cette variabilité se trouve confirmée par le dendrogramme établi à partir de la matrice de similarité calculée à l'aide de l'indice de SOKAL et MICHENER (SOKAL et SNEATH 1963). Le dendrogramme donne en effet l'image d'un ensemble éclaté en sous-unités relativement indistinctes et peu différenciées dans la mesure où les niveaux de raccordement sont très voisins et situés à des valeurs de l'indice de similarité assez élevées (supérieures à 0,50).

De ce fait, les zymogrammes  $\alpha$ -estérases ne peuvent être interprétés que comme des marqueurs individuels.

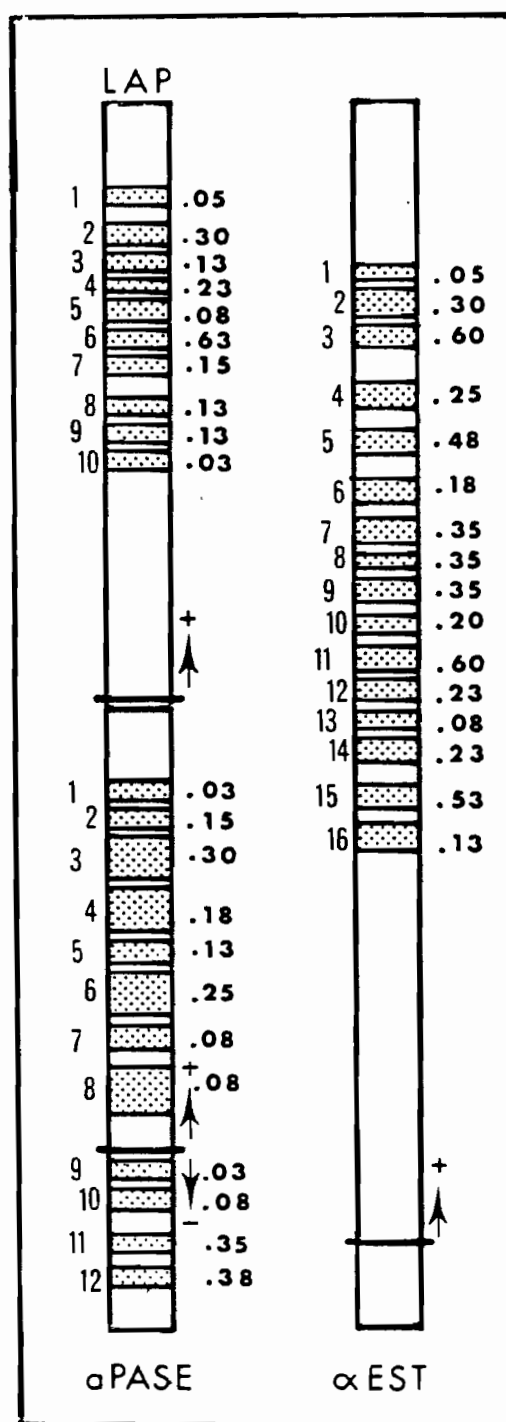


Figure 8. Diagrammes des différentes bandes révélées sur l'ensemble des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides*.

La numérotation des bandes est à gauche, leur fréquence est indiquée à droite. (Extrait de GEIGER, LOURD et HUGUENIN, 1980)



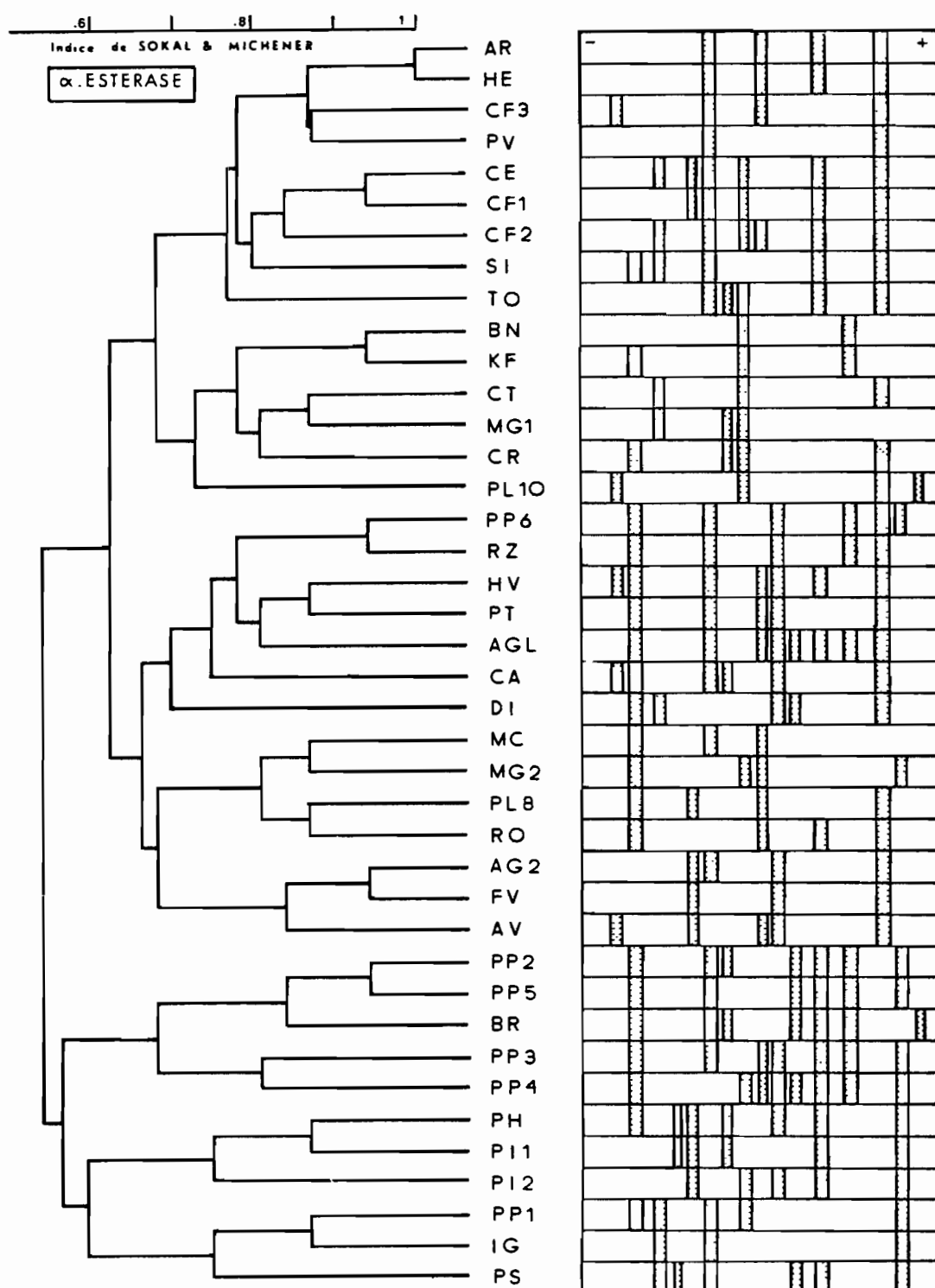


Figure 9  $\alpha$ -estérase: spectres enzymatiques des isolats et dendrogramme correspondant (extrait de GEIGER, LOURD et HUGUENIN, 1980).

## 1.2. ACTIVITES PHOSPHATASES ACIDES.

Les phosphatases sont également des estérases, spécifiques des liaisons phosphomonoesters. Leur spécialisation, plus étroite que celle des  $\alpha$ -estérases que nous venons d'étudier, se traduit au niveau des zymogrammes par une diversité moindre. Bien qu'il soit possible de distinguer douze bandes différentes sur l'ensemble de la collection, le nombre moyen de bandes par individu est relativement faible, de l'ordre de 2 à 3 (fig. 10).

Les douze bandes répertoriées se répartissent de part et d'autre de la ligne de dépôt, huit correspondant à une migration anodique et quatre à une migration cathodique. Les bandes les plus larges (3, 4, 6 et 8) pourraient correspondre à plusieurs fractions ayant des migrations très voisines mais leur séparation n'a pu être réalisée malgré l'essai de plusieurs systèmes de tampons.

Leur migration relative ayant été constante dans tous les essais, nous les avons considérées chacune comme une seule entité et traitées comme telles dans l'analyse numérique.

Comme chez les  $\alpha$ -estérases, nous n'observons pas de bande commune à l'ensemble des isolats, ni aucune qui puisse, par sa fréquence élevée, être considérée comme représentative de la collection.

Par contre, plusieurs associations comprenant deux ou trois bandes sont communes à un certain nombre d'isolats, ce qui entraîne de nombreuses identités. C'est ainsi que vingt-six isolats sont impliqués dans huit regroupements différents au niveau 1 de l'indice de similarité comme le montre le dendrogramme (fig. 10).

Ces unités biochimiques dont l'existence est sans doute due pour une grande part au nombre réduit de bandes par individu, traduisent de la même façon que les  $\alpha$ -estérases la structure polymorphe de l'ensemble étudié. Les groupes sont nombreux, peu différents au niveau de l'indice de similarité, et leur composition ne semble pas, ou peu, en relation avec d'autres caractéristiques telles que la morphologie ou l'origine parasitaire des individus. Certains isolats de

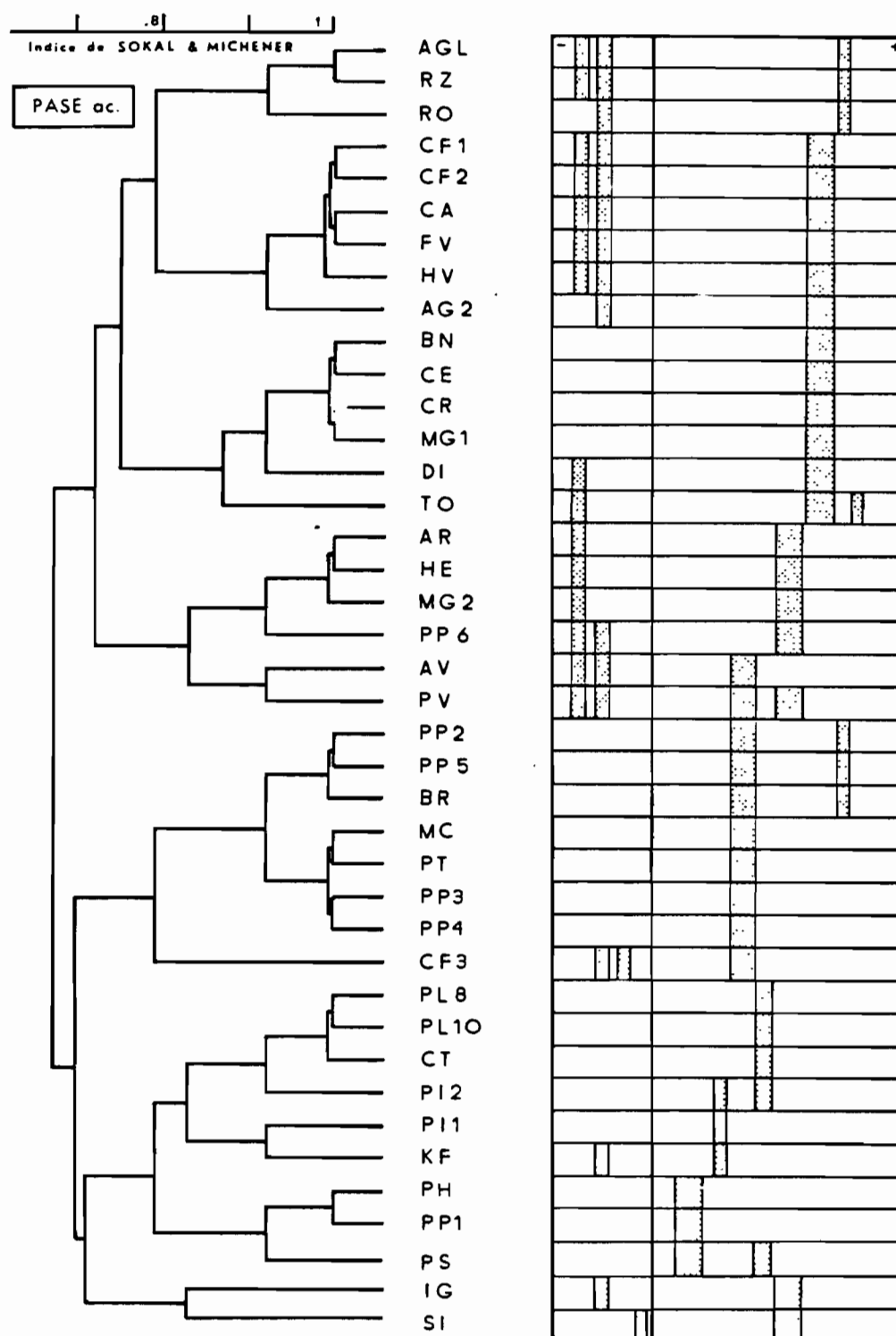


Figure 10. Phosphatases acides: spectres enzymatiques des isolats et dendrogramme correspondant (extrait de GEIGER, LOURD et HUGUENIN, 1980).

même origine ont un spectre phosphatases acides identique, tels que les isolats du caféier (Cf1 et Cf2) ou du palmier (P18 et P110), d'autres ont des spectres peu différents comme certains isolats du papayer ou très différents comme les isolats du manguier.

La structure du dendrogramme, le nombre des sites révélés sur l'ensemble de la collection et l'absence de corrélations évidentes pour différents caractères entre les individus de chaque unité existante, sont des éléments qui concourent à affirmer la nature polymorphe du complexe *C. gloeosporioides* pour le caractère biochimique considéré.

### 1.3. ACTIVITES LEUCYL-AMINO-PEPTIDASES

Les amino-peptidases sont des hydrolases spécifiques des groupements  $\alpha$ -amines libres des chaînes peptidiques. Cette propriété les conduit à intervenir sur un grand nombre de substrats protéiques. Selon une technique très couramment utilisée (SHAW et PRASAD 1970), il est possible de mettre en évidence des activités plus spécifiques par l'emploi de substrats appropriés. C'est ainsi que nous avons recherché à révéler principalement les activités leucyl-amino-peptidases par l'emploi d'un substrat spécifique : la 1-leucyl- $\beta$ -naphtylamide, en raison de leur très bonne stabilité en électrophorèse.

Les activités L A P sont représentées, pour la totalité des quarante isolats, par dix isozymes différentes avec une moyenne de deux bandes par individu (fig. 11).

La bande 6, avec une fréquence d'apparition de 0,63 est la plus représentative de la collection en l'absence d'une bande commune à l'ensemble des individus. Comme pour les phosphatases acides, le nombre réduit des bandes par isolat entraîne de nombreuses identités au niveau 1 de l'indice de SOKAL et MICHENER mais la diversité des sites fait que les regroupements n'impliquent que quelques individus.

Si certains isolats de même origine présentent une totale identité,

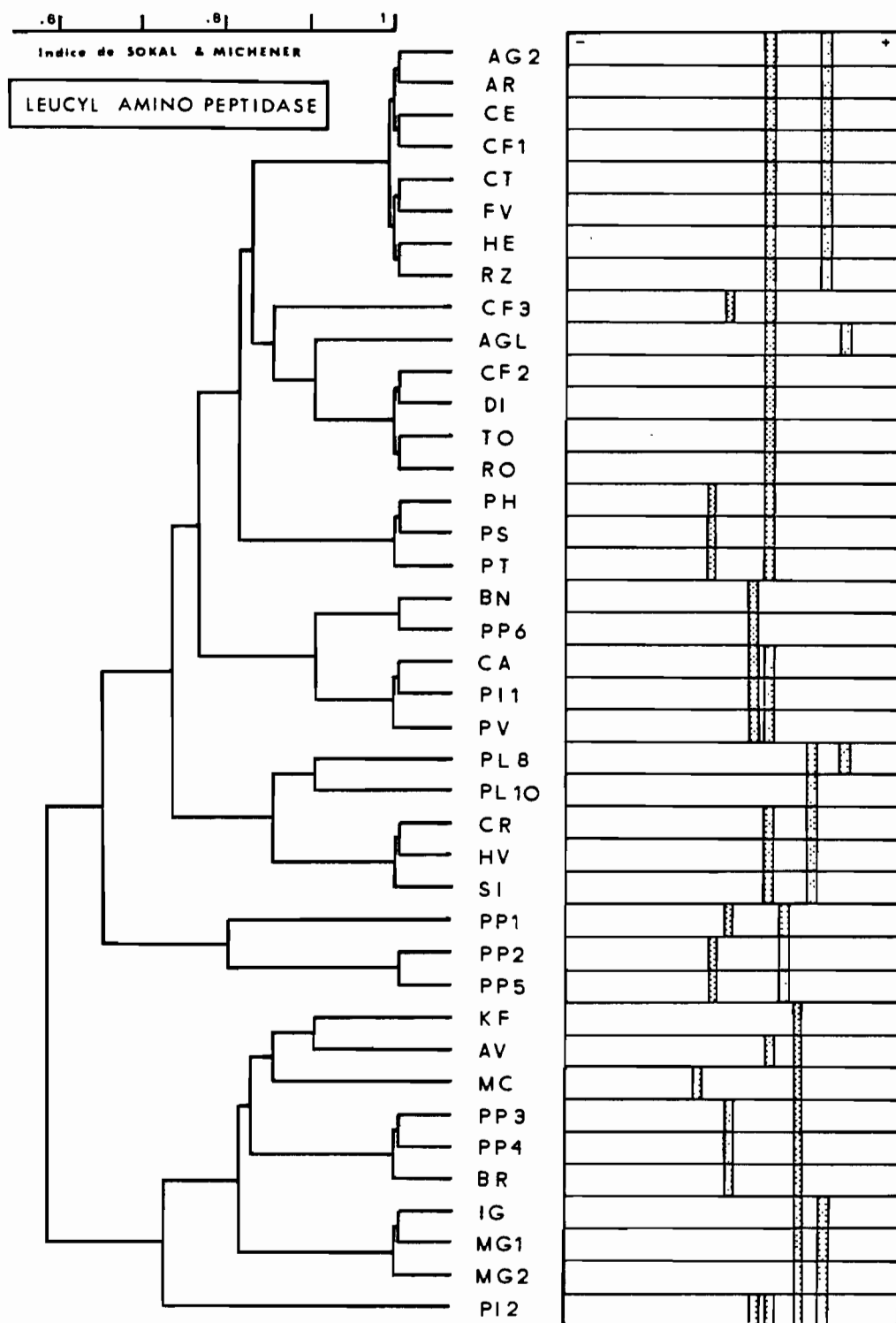


Figure 11. Leucyl-amino-peptidases: spectres enzymatiques des isolats et dendrogramme correspondant (extrait de GEIGER, LOURD et HUGUENIN, 1980).

Mg1 et Mg2, Pp2 et Pp5, Pp3 et Pp4, d'autres se trouvent dispersés et les homologues concernent aussi bien des isolats de plantes et lieux de prélèvement différents. De plus, les regroupements par branchements successifs à différents niveaux de l'indice de similarité sur le dendrogramme de la figure 11, montrent que l'ensemble n'est pas organisé. Comme pour les analyses enzymatiques précédentes, la collection se présente sous la forme d'une mosaïque de petites entités sans liaison structurée entre elles.

#### 1.4. SYNTHESE DES ANALYSES ENZYMATIQUES.

Chacune des trois activités enzymatiques étudiées nous a révélé une image sensiblement différente des associations pouvant exister entre les isolats de *Colletotrichum gloeosporioides*. Toutes, cependant, révèlent que la caractéristique dominante de cet ensemble est un polymorphisme marqué. A cet égard, l'analyse biochimique va dans le même sens que l'étude des caractères morphologiques pour montrer que tous ces isolats constituent un groupe génétiquement diversifié.

L'analyse factorielle sur la totalité des données enzymatiques traduit, par le dendrogramme représenté à la figure 12, cette tendance à la dispersion des individus dans un ensemble polymorphe. Au demeurant, cela n'exclut pas certains regroupements sur la base d'affinités génétiques plus marquées. Ces regroupements sont notables pour quelques isolats qui ont une origine commune. C'est ainsi que les isolats de papayer, en particulier Pp2 et Pp5, Pp3 et Pp4, sont identiques deux à deux pour leurs zymogrammes L A P et phosphatases et constituent, ensemble avec la souche du *Breynia* (Br), un sous-groupe au sein du dendrogramme généralisé. On peut également remarquer que les isolats du palmier à huile et ceux du piment sont relativement proches sur ce même dendrogramme.

Mais ces quelques exemples ne peuvent pas être généralisés pour conclure à une relation étroite entre caractéristiques biochimiques et origine parasitaire, les isolats du manguier et ceux du caféier n'ayant pas de similarité isozymique évidente. Apparemment, aucun autre caractère d'ordre morphologique ou biologique ne semble orienter des regroupements particuliers au niveau des

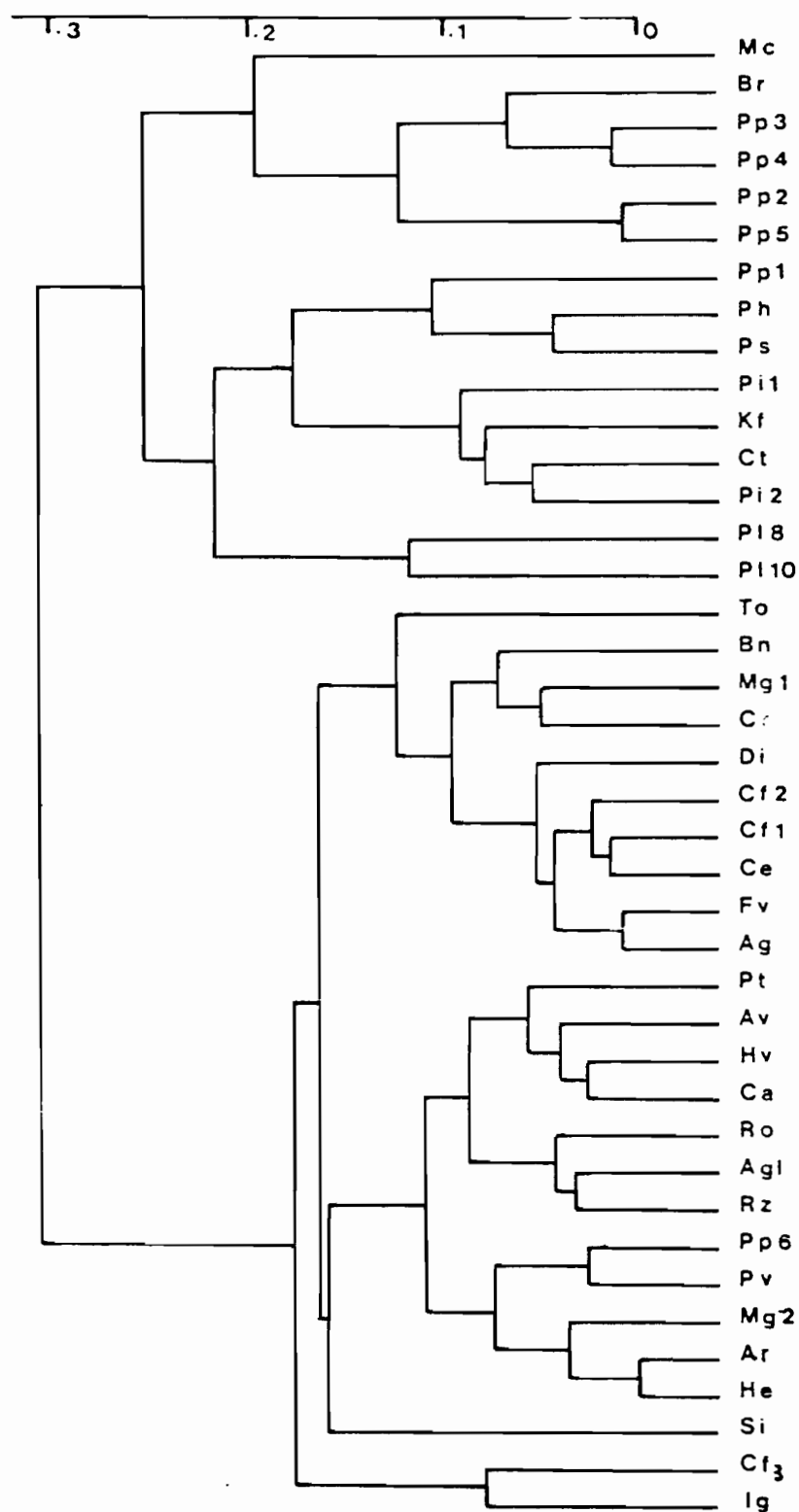


Figure 12. Dendrogramme des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* obtenu à partir de l'ensemble des activités enzymatiques révélées

(extrait de GEIGER, LOURD et HUGUENIN, 1980).

caractéristiques enzymatiques.

A ce stade de l'analyse, la description des individus a partir des caractéristiques de leurs protéines intracellulaires recoupe parfaitement les conclusions tirées de l'étude morphologique. Pas plus que cette dernière, elle ne permet de déterminer l'existence éventuelle d'unités biologiques au sein du taxon *C.gloeosporioides* sensu Von ARX. Celui-ci apparaît avec les descripteurs biochimiques et dans le contexte de notre collection réalisée en Côte d'Ivoire, comme un ensemble d'individus appartenant à un pool génétique très large, au sein duquel n'apparaissent pas de filiations évidentes.

L'analyse biochimique permet de situer la variabilité à l'intérieur du taxon mais n'en fixe pas les limites. Au même titre que le *Fusarium oxysporum* ou le *Rhizoctonia solani* (CLARE et al 1968, GLYNN et REID 1969), le *Colletotrichum gloeosporioides* se présente comme une espèce "agrégat" dans laquelle les unités biologiques doivent sans doute être recherchées au niveau de la population pathogène.

## 2. CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DES COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA .

Une étude identique à la précédente a été conduite sur les isolats de *C. graminicola* collectés en Côte d'Ivoire et ceux provenant de Guadeloupe et de France qui complètent notre collection.

Les mêmes impératifs techniques ont été respectés dans la conduite de l'expérimentation de façon à placer tous les individus dans des conditions identiques et afin d'obtenir des spectres stables et reproductibles après électrophorèse. Contrairement aux *C. gloeosporioides*, l'analyse des protéines totales a pu fournir des données intéressantes grâce à la clarté des spectres obtenus. Cette analyse a, de plus, été complétée par l'étude des activités enzymatiques  $\alpha$ -estérases, L A P et phosphatases acides.



## 2.1. LES PROTEINES TOTALES.

L'analyse a été effectuée par électrophorèse des protéines solubles sur gel de polyacrylamide. Les spectres sont révélés par coloration au Bleu de Coomassie. Un ensemble de vingt-deux bandes protéiques, aisément identifiables dans la zone comprise entre 0 et 0,5 de migration relative, caractérise les huit isolats testés. Chaque individu possède au moins huit bandes. Le schéma d'interprétation des spectres (fig.13) permet de constater que les isolats Cs2 et CsF sont identiques et que les quatre isolats de canne à sucre présentent une grande similitude puisqu'ils possèdent cinq bandes en commun. La diversité des spectres apparaît plus importante chez les autres isolats.

L'analyse numérique de ces données par le calcul de l'indice de similarité de SOKAL et MICHENER conduit à l'élaboration du dendrogramme représenté à la figure 14. Celui-ci ne montre pas de groupes bien délimités mais les raccords successifs permettent de faire ressortir l'association préférentielle des isolats de canne à sucre. La variabilité génétique reste importante et ne permet pas de pousser plus loin la séparation entre les différentes origines parasitaires.

## 2.2. ACTIVITES $\alpha$ -ESTERASES.

Trois isolats issus de maïs et collectés par MESSIAEN viennent s'ajouter aux huit isolats de notre collection. Comme MF1, ces isolats symbolisés MF2, MF3 et MF4 sont des clones provenant de souches isolées dans les plantations du sud-est de la France et leur passage en électrophorèse répond à la demande qui nous a été faite de préciser la variabilité des *Colletotrichum* du maïs de cette région.

La révélation des activités  $\alpha$ -estérases après électrophorèse des protéines solubles permet de caractériser seize isozymes sur l'ensemble des onze individus analysés.

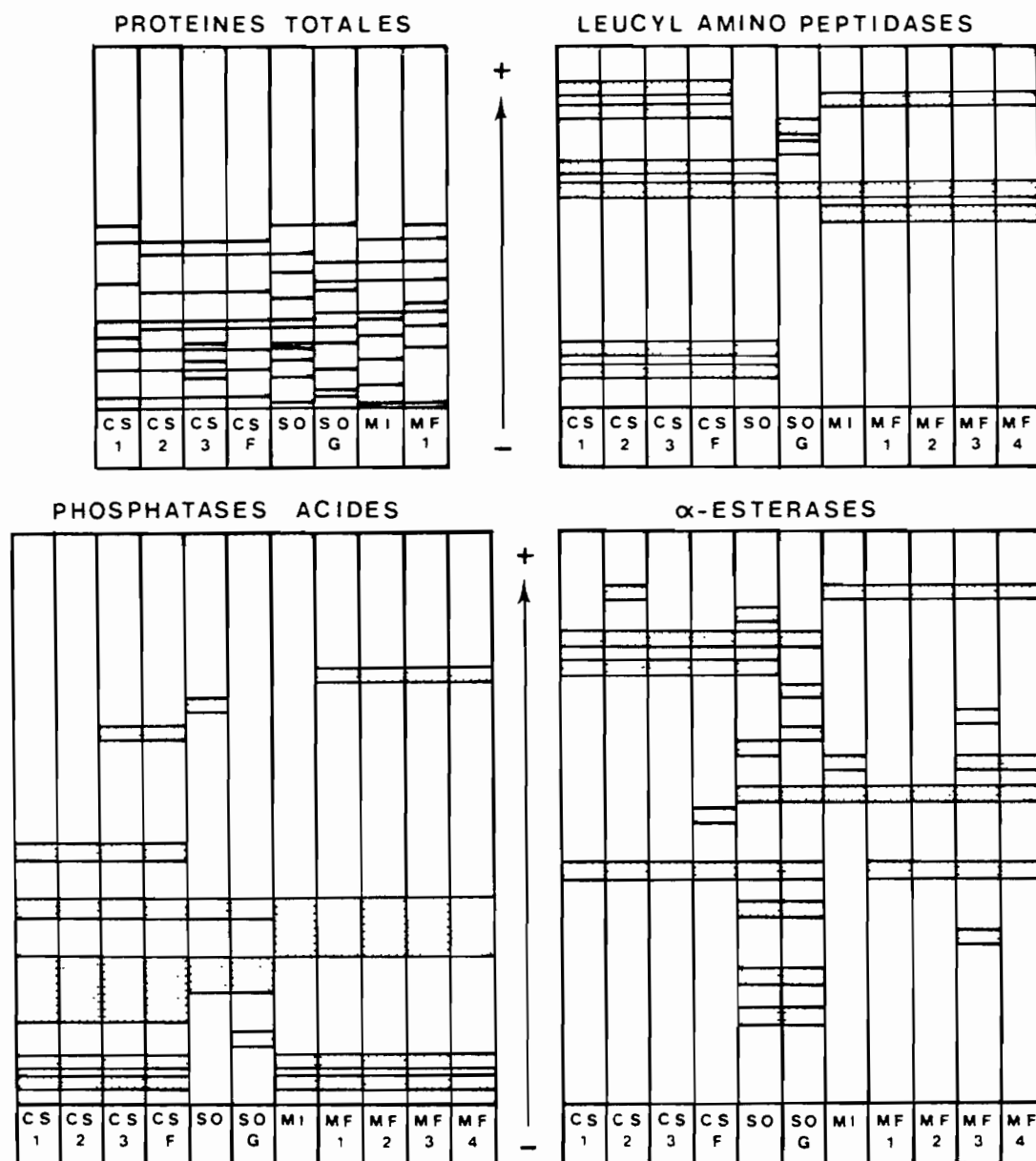


Figure 13. Schémas d'interprétation des spectres protéiques et enzymatiques des isolats de *Colletotrichum graminicola*.

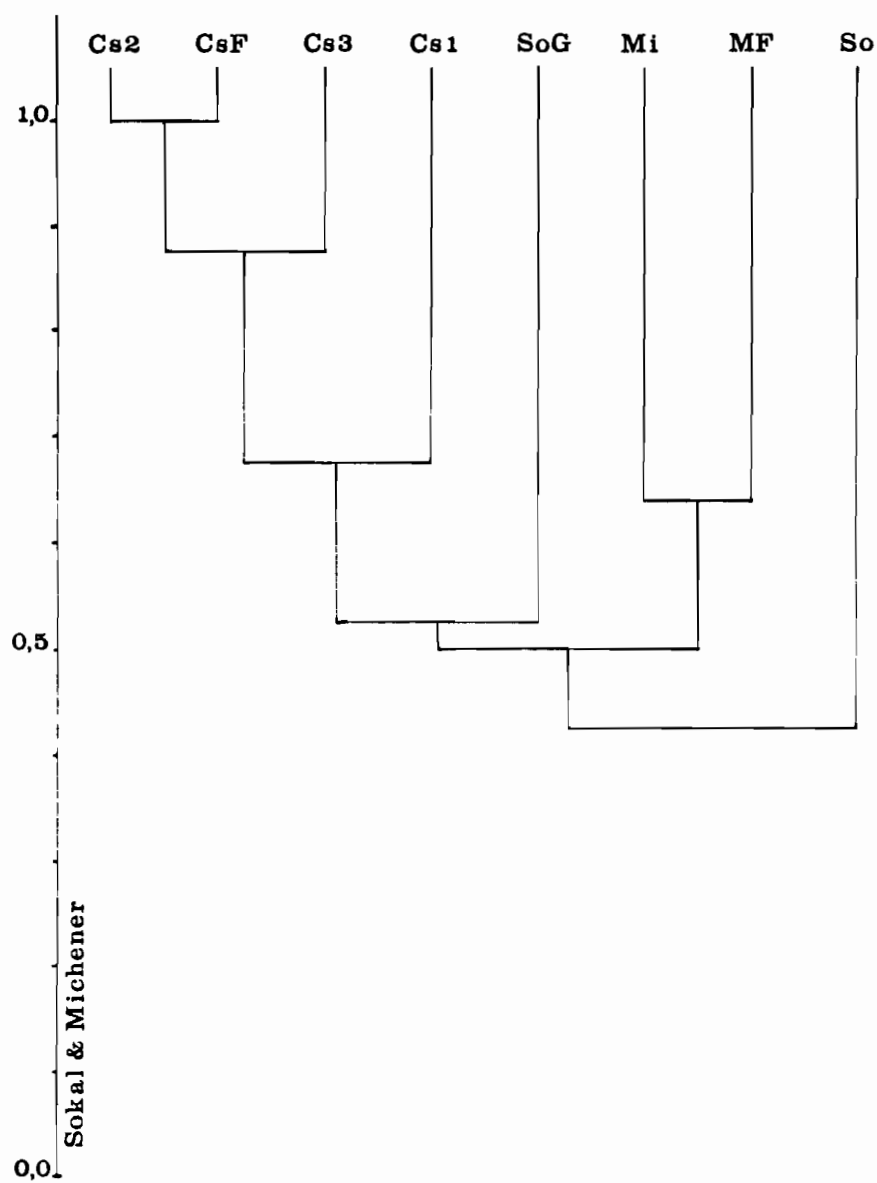


Figure 14. Dendrogramme des isolats de *Colletotrichum graminicola* établi à partir des spectres de protéines totales.

Contrairement à la situation observée chez les *C. gloeosporioides*, les spectres apparaissent très homogènes en fonction de l'origine des isolats bien que le nombre total de sites et le nombre moyen de bandes par individu soient sensiblement du même ordre. Les isolats canne à sucre Cs1 et Cs3 sont identiques avec trois bandes qui sont d'ailleurs communes aux quatre isolats de cette plante hôte. Les clones français d'antracnose du maïs ont également trois bandes communes dont une que possède également l'isolat de Côte d'Ivoire. Enfin, les isolats du sorgho qui présentent les spectres les plus diversifiés (huit et neuf bandes) ont six isozymes communes (fig. 13).

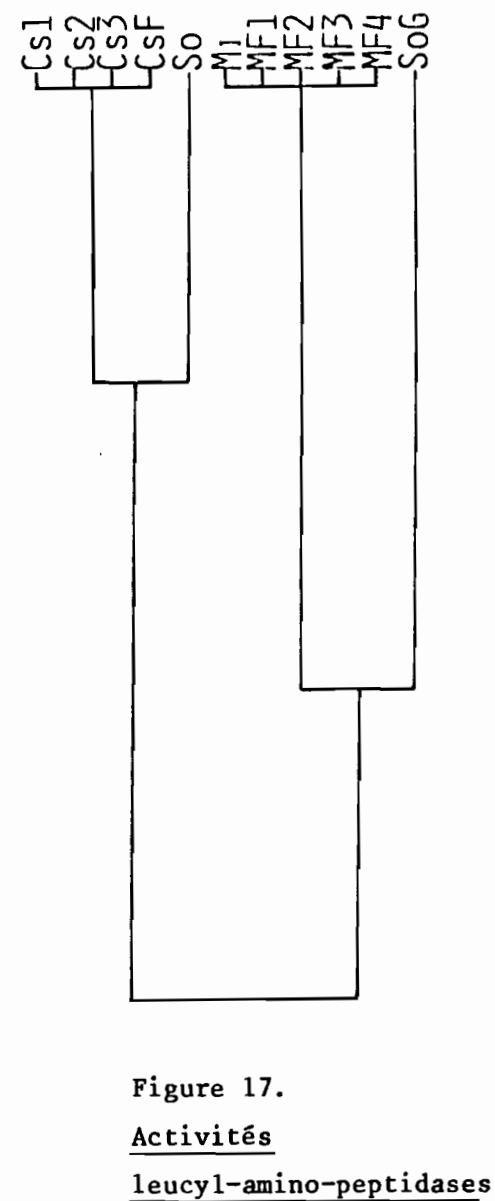
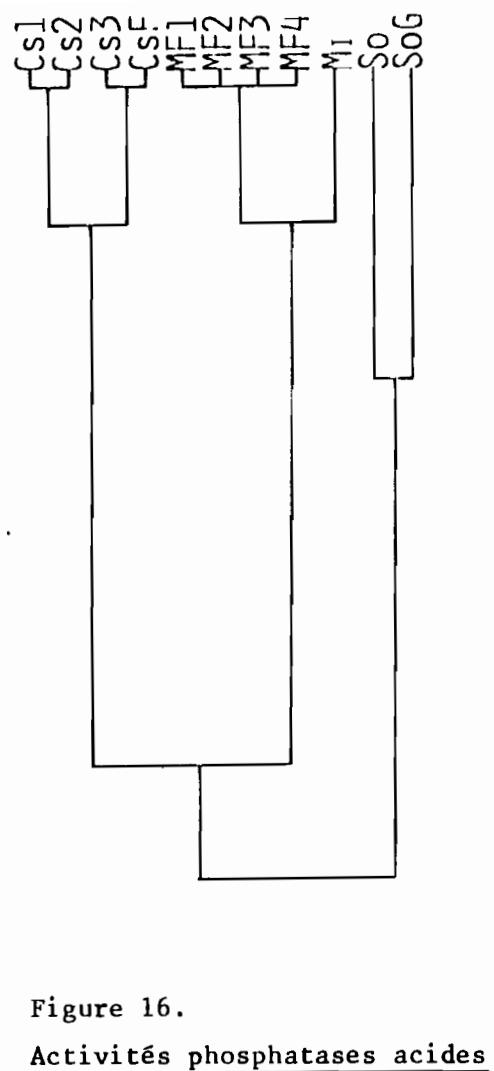
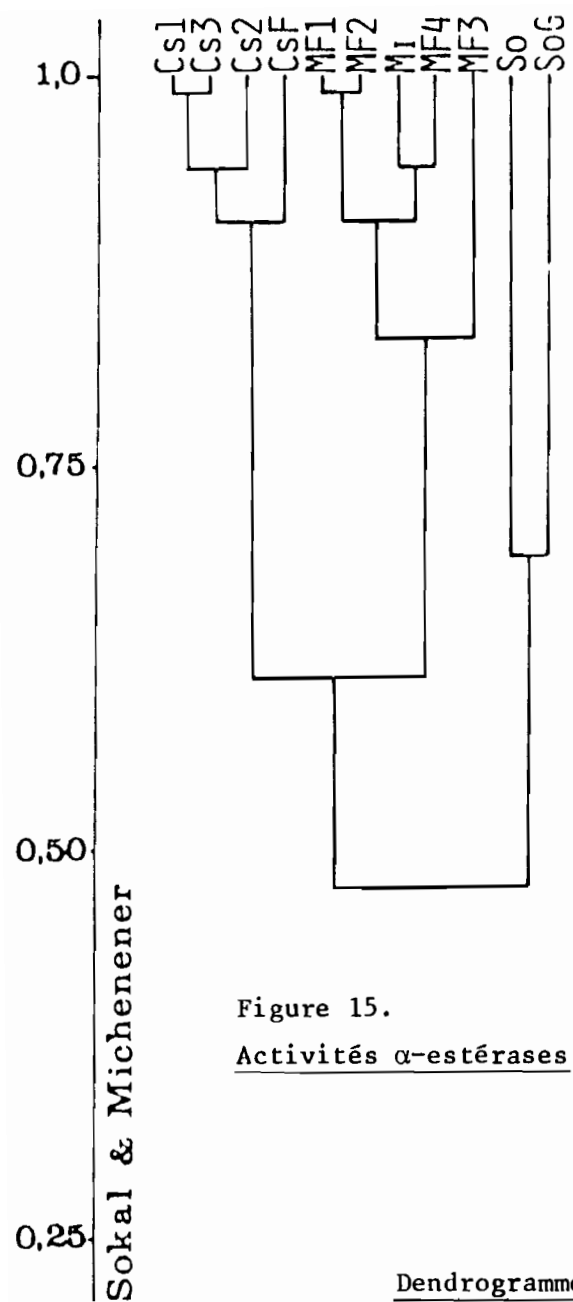
Les spectres d'activités  $\alpha$ -estérases révèlent donc une différenciation marquée entre les isolats de *C. graminicola* en fonction de leur origine parasitaire, ce que le dendrogramme établi à partir de la matrice de similarité (fig.15) permet de clairement visualiser.

Les différents niveaux de raccordements selon les valeurs de l'indice de similarité montrent par ailleurs que les souches canne à sucre sont les plus homogènes et constituent une entité génétiquement très individualisée par rapport aux autres isolats. La variabilité intragroupe chez les isolats du maïs reste relativement faible malgré la présence d'une souche tropicale (Mi) parmi les isolats d'origine française.

### 2.3. ACTIVITES PHOSPHATASES ACIDES.

Les spectres d'activités phosphatases acides ont posé quelques problèmes d'interprétation du fait de la présence de bandes très larges qui correspondent vraisemblablement à des ensembles de bandes très proches. Différents essais de tampons n'ont pas permis de les séparer, c'est pourquoi nous les avons traitées comme une bande unique.

Au total, onze isozymes ont été repérées huit étant matérialisées par des bandes fines et trois correspondant aux bandes larges. Chacune de ces dernières correspond à un type d'isolats. La plus haute correspond aux isolats du maïs,



Dendrogrammes des isolats de *Colletotrichum graminicola* établis à partir des spectres enzymatiques.

la plus basse aux isolats de canne à sucre et celle en position intermédiaire est spécifique des deux isolats sorgho (fig.13) mais incluse en partie dans la bande basse des isolats canne à sucre. Le mélange d'individus deux à deux nous a permis de lever les ambiguïtés relatives aux positions respectives de ces bandes.

Chaque catégorie d'isolats est aisément séparée par cette analyse enzymatique. L'ensemble est constitué de trois groupes parfaitement individualisés selon le type de plante hôte (fig.16) et chaque groupe fait preuve d'une grande homogénéité, à l'exception des deux isolats sorgho. De plus, l'étude de cette activité enzymatique permet de séparer l'isolat maïs de Côte d'Ivoire des isolats maïs de France qui sont tous identiques.

#### 2.4. ACTIVITES LEUCYL-AMINO-PEPTIDASES.

Les spectres L A P se composent de dix isozymes différentes sur l'ensemble des échantillons analysés.

Comme pour les phosphatases, les zymogrammes apparaissent remarquables d'homogénéité pour chaque catégorie d'isolats selon leur plante d'origine (fig.13). Tous les isolats maïs d'une part et tous les isolats canne à sucre d'autre part sont identiques pour les activités L A P. L'origine géographique différente des souches maïs n'implique donc pas une différenciation génétique pour ce caractère.

Dans le cas des isolats du sorgho, par contre, il semble que chacun des deux individus présente un génotype spécifique et que l'affinité de So avec les isolats canne à sucre soit pour une grande part due à la même origine géographique.

#### 2.5. SYNTHESE DES ANALYSES ENZYMATIQUES.

L'étude des spectres de protéines totales puis des trois activités enzymatiques révélées donne une image convergente et progressivement affinée de

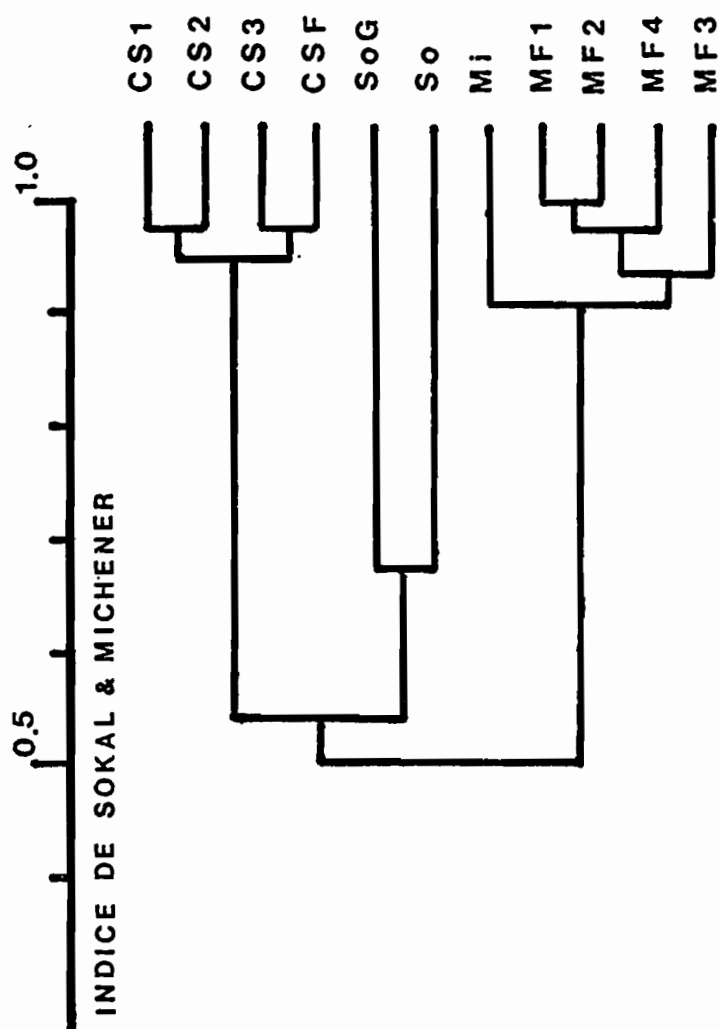


Figure 18. Dendrogramme des isolats de *Colletotrichum graminicola* obtenu à partir de l'ensemble des activités enzymatiques révélées.

notre collection d'isolats de *Colletotrichum graminicola* provenant de trois graminées différentes : la canne à sucre, le sorgho et le maïs.

Les protéinogrammes présentent de nombreuses bandes et l'on pouvait craindre à priori que leur pouvoir séparateur élevé entraîne une dispersion des individus masquant les points de convergence. Bien qu'il ne se dégage pas de regroupement net en unités bien délimitées, on constate que les isolats de canne à sucre présentent les spectres les plus convergents. Parmi les isolats étudiés, ils sont sans doute plus fortement liés au plan phylogénétique.

Avec un pouvoir de résolution plus fin, l'analyse enzymatique permet de délimiter des entités nettement séparées comme le montre le dendrogramme généralisé à l'ensemble des trois activités enzymatiques étudiées (fig. 18). Ces entités sont formées des isolats de même origine parasitaire. Il s'agit du critère dominant de regroupement en dépit de l'origine géographique éloignée des individus du groupe maïs et des deux isolats du sorgho.

L'analyse successive de chacune des activités enzymatiques a également montré que des affinités plus ou moins grandes pouvaient exister entre les isolats d'une même plante hôte. L'homogénéité des isolats canne à sucre est pratiquement constante pour les trois enzymes. Ils constituent le groupe le plus nettement différencié à l'intérieur duquel la variabilité génétique apparaît relativement faible.

Les isolats du maïs constituent également un ensemble homogène chez lequel les cinq clones originaires de France sont identiques pour les activités L A P et phosphatases. L'analyse des phosphatases permet de distinguer l'isolat de Côte d'Ivoire tandis que les  $\alpha$ -estérases révèlent l'existence d'une certaine variabilité intra-groupe.

Les isolats sorgho diffèrent plus sensiblement pour chacune de leurs caractéristiques enzymatiques du fait qu'ils sont d'une origine géographique différente et ne constituent que deux individus en marge des ensembles précédents. Ils appartiennent sans doute à un phylum différent mais gardent certaines caractéristiques communes avec les isolats canne à sucre et maïs au niveau des spectres L A P.



L'analyse biochimique apporte des éléments de détermination étroitement complémentaires aux données fournies par l'étude des caractères morphologiques qui mettait déjà en évidence la corrélation entre phénotype et origine parasitaire. Cette corrélation peut être étendue aux caractéristiques enzymatiques. Il semble, à la lecture de ces résultats, que les isolats étudiés, représentatifs de l'espèce *C. graminicola* définie par Von ARX, appartiennent à des ensembles phylogénétiques différents.

Contrairement à *C. gloeosporioides*, qui représente un ensemble extrêmement variable sans axes de différenciation caractérisés, tout au moins aux vues des données recueillies, *C. graminicola* sensu Von ARX est constitué d'entités bien différenciées que l'analyse biochimique permet de mettre clairement en évidence.

## ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE

Lors du chapitre de présentation, nous avons souligné le caractère polyphage des *Colletotrichum*. Dès les premières études, HALSTED (1893) soulignait l'aptitude du *C. lindemuthianum*, parasite du haricot, à infecter des fruits d'aubergine, de poirier et de citronnier. Il montrait également que des isolats d'origines diverses (aubergine, pastèque, pommier, tomate) étaient pathogènes à l'égard du haricot. Par la suite, il a été très largement démontré que la majorité des isolats de *C. gloeosporioides* ne sont pas strictement inféodés à leur hôte d'origine (Von ARX 1957, STIPES 1965).

Par ailleurs, de nombreuses souches de *Colletotrichum* font preuve d'une agressivité très faible, se développent en saprophytes puis deviennent parasites à la faveur de circonstances favorables à leur pénétration dans les tissus de l'hôte. Ainsi, il est fréquent d'isoler plusieurs souches différentes sur des organes végétaux malades sans pouvoir déterminer exactement lesquelles sont réellement pathogènes. FOLLIN (1969) s'est trouvé confronté à ce problème avec les *Colletotrichum* du cotonnier. HINDORF (1973) a également montré que le caféier *Coffea arabica* du Kenya hébergeait régulièrement trois types d'isolats rapportés à trois espèces : *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* et *C. coffeanum*. Seule cette dernière est responsable de l'antracnose des baies (MULLER, 1978).

Les connaissances relatives au pouvoir pathogène de ces organismes révèlent donc une grande diversité de comportement parasitaire. Il semble que dans la majorité des cas, celui-ci s'exprime de façon quantitative, les isolats pouvant être distingués selon leur agressivité et la largeur de leur spectre d'hôtes. Quelques espèces rattachées au groupe *C. gloeosporioides* se montrent cependant beaucoup plus spécifiques. *Colletotrichum lindemuthianum*, agent de l'antracnose du haricot ou *C. lagenarium* agent de l'antracnose des Cucurbitacées, constituent deux exemples de parasites très spécifiques et hautement pathogènes. Des distinctions de nature qualitative peuvent être faites entre les races physiologiques du champignon selon leur virulence à l'égard des variétés

de l'hôte.

La caractérisation du pouvoir pathogène des isolats de notre collection constituera le troisième élément de description des deux espèces étudiées, en essayant d'évaluer la part respective des modes d'agression qualitatif et quantitatif.

## 1. LE POUVOIR PATHOGÈNE DES ISOLATS DE COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES

Deux questions se posent en abordant cette étude : quelle gamme d'hôtes choisir pour révéler convenablement le pouvoir pathogène de chacun des clones de la collection ? Quelle méthode d'inoculation convient-il d'utiliser pour que le pouvoir pathogène s'exprime dans les meilleures conditions ?

Il n'existe sans doute pas de réponse définitive à la première question dans la mesure où l'image que l'on peut avoir d'un phénomène reste limitée aux possibilités de l'expérimentation. Il convient donc de procéder par étapes successives afin de vérifier tout d'abord que l'isolat étudié est pathogène à l'égard de son hôte d'origine. Ensuite, par le choix de plantes connues pour leur sensibilité aux maladies de type anthracnose, il est possible de cerner l'aptitude à coloniser d'autres hôtes. Enfin, la confrontation à différentes variétés d'une même plante hôte et l'évaluation quantitative des symptômes sont des éléments expérimentaux permettant une première approche pour la caractérisation du pouvoir pathogène.

Ainsi, nous avons procédé successivement à des séries d'inoculations sur des plantes de même espèce que les hôtes d'origine, puis sur une gamme étendue à d'autres espèces appartenant principalement à trois familles botaniques : Cucurbitacées, Malvacées et Solanées. Enfin, nous avons centré l'étude du pouvoir pathogène de chaque isolat sur cinq variétés de jute appartenant à deux espèces : *Corchorus capsularis* et *C. olitorius*.

Ce choix résulte de multiples tests au cours desquels a été évaluée la réaction de nombreuses plantes inoculées par tous les isolats de *C. gloeosporioides*. A des degrés divers, les jeunes plantes de jute présentaient une sensibilité à l'égard du plus grand nombre d'isolats. De plus les travaux de CHOUDHURY et AHMED (1969) et de ISLAM et AHMED (1964) ont montré qu'il était possible de caractériser plusieurs types de réactions chez l'hôte suivant la taille des lésions provoquées par des inoculations dans la tige. Il existe donc chez ces plantes une réaction graduelle à l'infection pouvant traduire aussi bien des niveaux de résistance partielle que des degrés d'agressivité chez le pathogène.

La deuxième question posée en préalable à cette étude soulève le problème des méthodes d'inoculation. Elles doivent tenir compte de deux caractéristiques importantes de l'hôte : l'âge et le type d'organe susceptible de mieux extérioriser les symptômes. L'inoculation peut être réalisée avec ou sans blessure préalable de la plante. Enfin, l'inoculum doit être constitué des organes du champignon les plus aptes à coloniser les tissus de l'hôte.

Tenant compte de ces différents critères, nos techniques d'inoculation ont été adaptées au matériel expérimental que nous avons utilisé.

### 1.1. TESTS SUR LES PLANTES-HÔTES D'ORIGINE

Pour se conformer aux principes de KOCH, chaque isolat doit être inoculé sur son hôte d'origine puis réisolé afin de vérifier son aptitude à reproduire les symptômes observés dans la nature.

Pour que cette vérification soit rigoureuse, il conviendrait de maîtriser parfaitement, pour les reproduire exactement, tous les éléments qui interviennent dans l'installation et le déroulement du processus parasitaire en conditions naturelles. Deux éléments au moins nous sont inconnus dans la majorité des cas qui nous concernent : la variété de la plante hôte et les conditions particulières qui ont présidé à l'installation du parasite et à son développement :

environnement climatique, état physiologique et âge de la plante, etc.

Compte-tenu de ces restrictions, les premières inoculations auxquelles nous avons procédé visent à déterminer de façon qualitative l'aptitude parasitaire des isolats à l'égard des espèces végétales identiques à celles de l'hôte naturel. Selon les isolats, les inoculations ont été pratiquées sur plantes entières ou sur fruits ou les deux dans quelques cas.

#### - Inoculations sur plantes entières

Les inoculations sont effectuées sur des plantes présentant des feuilles adultes bien étalées. Les plantes proviennent soit de semis, soit de boutures de variétés connues à l'exception du manguier.

L'inoculum est préparé à partir de cultures sur milieu liquide (voir chap.I), appliqué en pulvérisation de très fines gouttelettes à l'aide d'un pistolet pneumatique sur l'ensemble des parties aériennes de la plante. Disposant de dix à vingt plants pour chaque espèce, nous les avons séparés en deux lots égaux. L'un est constitué de plantes dont les feuilles ont été blessées superficiellement avec de la poudre de Cérite.

Après inoculation, les plants sont placés sous des cages de polystyrène en atmosphère saturée en humidité pendant quarante-huit heures puis dans une chambre climatisée à 24°C où une humidité de 80 à 90% est maintenue. Une première lecture des symptômes est effectuée après une semaine. La lecture définitive a lieu deux semaines après inoculation. Ces deux observations successives ont pour but de noter l'évolution des symptômes.

Trois notations sont retenues : - absence de symptômes ;  
+ taches nécrotiques de petite taille, non évolutives, sans formation de fructifications ;  
++ taches bien développées portant les acervules caractéristiques du champignon ;

Tableau 10 : Inoculation des isolats de *C. gloeosporioides* sur leurs hôtes respectifs.

Isolats	Plantes non blessées	Plantes blessées
Ag1	+ (++)	++
Ag	+	++
Av	-	++
Bn		
Br		
Ca	+	++
Cf1	-	++
Cf2	-	++
Ce		
Ct	+	++
Cr	-	++
Di	+	++
Fv	++	++
Hv	+ (++)	++
Ig	++	++
Kf	+	++
Mgl	+	++

Isolats	Plantes non blessées	Plantes blessées
Mg2	+	++
Mc	+	++
P18		
P110		
Pp1	+	++
Pp2	++	++
Pp3	+	++
Pp4	+	++
Pp5	+	++
Pt	+ (++)	++
Ph	-	++
Pil	+	++
Pi2	+	++
Rz	-	+
Ro		
Si		
To	+	++

- : pas de symptôme; + : petites taches non sporulées; ++ : nécroses bien développées avec acervules;  
: symptômes affectant seulement les jeunes feuilles.

Les résultats sont consignés dans le tableau 10.

Quelques isolats n'ont pas été testés au cours de cette expérience, soit qu'ils avaient été inoculés par ailleurs (isolats de la banane Bn, du palmier Pl8 et Pl10), soit parce que nous ne disposions pas de plantes correspondant à l'hôte d'origine (isolats du *Breynia* Br, du rosier Ro, du Sipo Si).

La lecture du tableau fait tout d'abord apparaître et de façon significative, les différences de comportement des isolats selon que les plantes sont blessées ou non. Dans le premier cas, les symptômes apparaissent beaucoup plus marqués.

La comparaison des isolats conduit à distinguer trois types de situation. Il y a tout d'abord les isolats incapables de pénétrer dans les tissus de l'hôte sans blessure préalable. Mais dès qu'une voie de pénétration est ouverte, ils sont en mesure de coloniser rapidement les tissus et de produire les symptômes typiques de l'anthracnose. Ce comportement correspond à cinq isolats : Av, Cf1, Cf2, Cr et Ph.

Le deuxième cas est représenté par les isolats capables de pénétrer dans les feuilles de la plante, parfois seulement les jeunes feuilles, mais dans l'impossibilité de développer des symptômes graves. Ceux-ci restent limités à des taches nécrotiques peu étendues sur lesquelles aucune fructification du champignon n'est visible au moment de la lecture. Après blessure, les symptômes se développent normalement et le champignon fructifie deux semaines après l'inoculation. La moitié des isolats testés présente ce type de comportement.

Enfin, il y a les isolats dont le pouvoir pathogène s'exprime de la même façon, que les plantes soient blessées ou non. Certains comme Ag1, Hv et Pt, n'infectent que les jeunes feuilles en absence de blessure. Les autres, de la fève (Fv) et de l'igname (Ig) et un isolat du papayer (Pp2), envahissent rapidement et entièrement la plante qui meurt le plus souvent.

Seul l'isolat du riz (Rz) semble incapable de parasiter l'hôte d'origine, même après blessure. Cette souche isolée à l'IRAT (Bouaké) sur plants de riz sérieusement infectés par le *Pyricularia oryzae* doit être considérée comme un saprophyte s'installant sans doute dans les tissus morts ou très dégradés.

A l'exception de Rz, tous les isolats sont donc capables d'infecter l'hôte à partir duquel ils ont été collectés en reproduisant les symptômes caractéristiques de l'anthracnose. Cependant, tous n'ont pas la même aptitude à franchir les barrières de défense opposées par la plante puisque seuls Fv, Ig et Pp2 peuvent pénétrer et se développer sur les feuilles adultes et Ag1, Hv, Pt, sur les jeunes feuilles. Tous les autres isolats, à des degrés divers, ne peuvent infecter les parties aériennes des plantes qu'après l'intervention de blessures superficielles qui ont sans doute pour effet d'altérer ou de détruire partiellement les défenses naturelles de l'hôte.

En d'autres termes, il apparaît que les isolats étudiés sont effectivement pathogènes à l'égard de leurs hôtes respectifs mais ils se distinguent entre eux par leur différent niveau d'agressivité c'est à dire leur différence d'aptitude à franchir les barrières opposées par la plante.

#### -Inoculations sur fruits

Afin de compléter la précédente expérience, quelques isolats ont été inoculés sur fruits d'après la méthode de FOURNET (1973), qui consiste à disposer une suspension de conidies à la surface des fruits préalablement piqués avec une aiguille à ensemercer. Des essais nous ont en effet montré que toutes les inoculations effectuées sans blessure ne donnent aucun résultat.

Comme précédemment, après inoculation les fruits sont placés pendant quarante-huit heures en chambre climatisée à 24°C, l'humidité atmosphérique étant maintenue à saturation, puis dans les mêmes conditions de température avec une humidité de l'ordre de 80%. Deux lectures successives sont effectuées



après une semaine, puis deux semaines suivant l'inoculation. La note (+) est affectée aux inoculations positives donnant naissance à des macules caractéristiques, déprimées, de couleur brune ou noire sur lesquelles se forment les acervules du champignon. La note (-) correspond à une absence de symptômes. Aucune note intermédiaire n'a été utilisée du fait d'un développement rapide de l'infection et de l'obtention de symptômes typiques dans tous les cas positifs.

Les résultats sont consignés dans le tableau 11.

Ces résultats permettent de confirmer le pouvoir pathogène des souches issues de fruits. Ainsi les isolats Ag, Ag1, Bn, Pp3, Pp4, Pp5, Pil et Pi2 produisent des symptômes typiques de pourriture sur les fruits de leurs hôtes respectifs.

Les inoculations croisées auxquelles nous avons procédé, apportent un certain nombre d'indications supplémentaires sur la spécificité de quelques isolats. Plusieurs parmi ceux qui ont été testés se montrent virulents à l'égard de différents hôtes et il est intéressant de remarquer que la plupart d'entre eux sont pathogènes pour au moins une espèce de la famille des Solanées. Les isolats Kf et Si se montrent les plus polyphages.

Inversement, certaines souches semblent présenter une spécificité plus étroite. C'est le cas en particulier des souches issues du papayer chez lesquelles on constate que seuls les isolats issus de fruit (Pp3, Pp4, Pp5) sont capables de produire des symptômes sur les papayers. Les isolats Pp1 et Pp2 semblent non seulement assez inféodés à leur hôte d'origine mais également plus étroitement spécialisés à un type d'organe végétal. L'isolat To, issu de nécroses sur tige de tomate, apparaît également non pathogène sur fruit de tomate mais il peut se révéler pathogène à l'égard de la papaye et du poivron. Il est possible aussi que l'état de maturité des fruits ait une influence sur l'expression du pouvoir pathogène des isolats sensibles au pH par exemple.

Il apparaît, à l'issue de cette première série de tests que plusieurs situations sont possibles quant au pouvoir pathogène et à son mode d'expression

Tableau 11 : Inoculations sur fruits de différents isolats de *C. gloeosporioides*

Isolats	Aubergine longue violette	Aubergine locale N'Drowa	Banane Poyo	Papaye	Piment variété locale	Poivron Yolo Wonder	Tomate Heinz
Ag	+	-		+	-	-	+
Ag1	-	+		-	+	-	+
Bn	-	-	+				
Br	+					+	-
Hv	+	-		+		+	-
Kf	+			+		+	+
Mc	-	-		-		+	-
Mgl	+	-		+		-	+
Pil					+		
Pi2					+		
Pp1	-			-			-
Pp2	-			-			+
Pp3	+			+			-
Pp4	-			+			-
Pp5	-			+		+	+
Pt	+	-				-	+
Si	+			+		+	+
To	-			+		+	-

chez le *Colletotrichum gloeosporioides*. Notre collection est constituée d'isolats dont la virulence est reconnue à l'égard de leurs hôtes d'origine, à l'exception sans doute de l'isolat Rz. Cependant, des différences notables entre les isolats sont enregistrées lorsque l'on compare leur aptitude à pénétrer puis à coloniser les tissus de l'hôte. L'agressivité des isolats que traduit cette aptitude peut se mesurer par la faculté d'infecter la plante avec ou sans blessure préalable. Autrement dit, au sein de l'espèce *C. gloeosporioides* représentée par les trente-quatre individus étudiés ici, le pouvoir pathogène peut varier de façon quantitative d'un isolat à l'autre.

Par ailleurs, les inoculations croisées effectuées sur fruits, nous montrent que le spectre d'hôtes d'un certain nombre d'isolats peut être étendu tandis que d'autres isolats sont plus étroitement inféodés à un type de plante. Il existe donc aussi des différences de nature qualitative dans l'expression de leur pouvoir pathogène.

Cette espèce du champignon apparaît donc aussi diversifiée dans ses aptitudes parasitaires qu'elle l'est apparue dans ses caractéristiques morphologiques ou enzymatiques.

La mise en place de nouvelles séries d'inoculations a pour but de préciser comment se répartissent les différents modes d'expression du pouvoir pathogène dans la collection étudiée. Les souches utilisées pour ces inoculations proviennent des réisolements effectués après la série d'expériences que nous venons de décrire.

## 1.2. EVALUATION QUALITATIVE DU POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS

Deux types différents de matériel végétal ont été utilisés dans cette expérimentation. Il s'agit d'une part de plantules cultivées en tube à essai et d'autre part, de plantes normalement développées en pots sur le substrat constitué d'un mélange de vermiculite et de sable, régulièrement alimentées par une solution nutritive de Knop.

Dans le premier cas, les inoculations sont effectuées au stade une à deux feuilles adultes pour toutes les espèces hôtes utilisées. L'inoculation est alors pratiquée par pulvérisation d'une suspension de conidies sur l'ensemble des organes aériens. Cette méthode utilisée par FOLLIN (1969) pour l'anthracnose du cotonnier et reprise par SERE (1977) dans son étude du *Colletotrichum lagenarium* du melon, place le champignon dans des conditions favorables à l'expression de son pouvoir pathogène du fait d'un environnement parfaitement contrôlé et stable dans les tubes à essais. La lecture des symptômes est effectuée une semaine après l'inoculation.

Dans le deuxième cas, les inoculations sont pratiquées de la même façon que lors des tests de pathogénie sur les plantes d'origine. L'inoculum constitué d'une suspension de conidies et uniformément réparti sur les parties aériennes des plantes par pulvérisation en très fines gouttelettes. Toutes les feuilles adultes sont préalablement abrasées avec de la poudre de Célite. Chaque isolat est inoculé sur un minimum de dix plantes de chacun des hôtes testés. Toutes les séries expérimentales comportent un lot témoin blessé sur lequel de l'eau stérile est pulvérisée. La lecture des symptômes a lieu deux semaines après l'inoculation.

Lorsque l'isolat inoculé est pathogène, les symptômes se développent rapidement sur les plantes en tube et de façon à peu près identique dans tous les cas. Ils débutent par un jaunissement marqué des tissus puis évoluent vers la formation de plages nécrotiques variables en nombre et en taille selon l'isolat et la plante. Ces symptômes peuvent évoluer jusqu'à entraîner la mort de la plante.

Les résultats exposés dans le tableau 12 se rapportent aux inoculations effectuées avec vingt-six isolats sur onze hôtes différents. On constate que toutes les souches testées sont pathogènes pour au moins une plante différente de celle sur laquelle elles ont été isolées. Les comportements apparaissent cependant assez variables. Un isolat du papayer (Pp4), les isolats de l'hévéa (Hv) et du rosier (Ro), et à un degré moindre, les isolats de *Breynia* (Br) et de la patate douce (Pt), se caractérisent par un pouvoir pathogène très étendu. A l'opposé, certains isolats présentent un spectre d'hôtes beaucoup plus res-

Tableau 12 : Résultats d'inoculations expérimentales de *Colletotrichum gloeosporioides* sur différentes plantes hôtes.

Isolats	Plantes-hôtes								I	II	III	
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)				
Ag	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	(1) Roselle verte
Ag1	+	-	+	+								(2) Kenaf Damara
Bn	-	-	+		-	-	-	-	-			(3) Kenaf Soudan tardif
Br	-	-	-		+	+	+	+	+	+	+	(4) Gombo
Ca	-	-	-	+					-			(5) Concombre
Ce	-	-	-	+		+	+	-	-	-	-	(6) Melon Doublon
Cf1	-		-		-	+	+	+	-		+	(7) Melon orlinabel
Cf2	+		-		-	+	-	+	+	+	+	(8) Melon Ido
Di	+	+	+						-			I Hévéa
Fv	+	-	-	-	-				-	-	+	II Melon Doublon
Hv	+	-	-		+	+	+	+	+	+	+	III Melon Ido
Kf	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
Mc	-		-		-	-	-	-	+		-	
Mg1	-	-	-		+	-	-	-	-	-	-	
Mg2	-	-	-						-			
Ph	-	-	+	-					+			
Pp1	-	-	-	+		+	-		+	+	+	
Pp2	-	-	+			-	+	-	+	-	-	
Pp3	-	-	+			+	-		+			
Pp4	-	-	+			+	+	+	+	+	+	
Pp5	-	-	-	+	+	-	-	-	+			
Pt	-	-	-		+	+	+	+	-	+	+	
Ro	+	-	+	+	+				+	+	+	
Rz	-					+	+	-	-	-	-	
Si	-	-	-			+	+	+	-		-	
To	-	-	-			+	+	+	+			

Notation des symptômes :

+ : nécroses caractéristiques

- : pas de symptôme significatif.

Plantes hôtes :

(1) Roselle verte

(2) Kenaf Damara

(3) Kenaf Soudan tardif

(4) Gombo

(5) Concombre

(6) Melon Doublon

(7) Melon orlinabel

(8) Melon Ido

I Hévéa

II Melon Doublon

III Melon Ido

treint . Celui du Kénaf (Kf) se limite aux Malvacées, Mc du manioc ou Mgl du manguier n'attaquent qu'une seule des plantes testées.

Les tests pratiqués sur jeunes plantes en tubes à essai n'apportent pas d'informations particulières au plan qualitatif. Les isolats pathogènes sur les variétés doublon et ido du melon le sont de façon identique sur plantes en pots et jeunes plantes en tubes. Les différences enregistrées sont essentiellement d'ordre quantitatif si l'on considère que les symptômes se développent plus rapidement et peuvent avoir des effets plus marqués sur plantes en tubes.

La gamme d'hôtes utilisée est certes trop restreinte pour juger de l'étendue réelle du pouvoir pathogène de chacun des isolats. Elle permet cependant de montrer que ceux-ci disposent d'une large mobilité parasitaire, sans qu'apparaissent nettement des éléments bien différenciés pour leur spécificité. En réalité, chaque isolat est sans doute capable de coloniser une très large gamme d'hôtes à condition qu'il soit placé dans un environnement favorable à son développement et que la plante ne soit pas en mesure de déployer toutes ses capacités de défense.

Pour la plupart des isolats collectés en Côte d'Ivoire, il apparaît que l'évaluation qualitative du pouvoir pathogène ne discrimine pas de groupes d'individus présentant une spécificité particulière. Les comportements sont extrêmement variables d'un isolat à l'autre. Chacun fait preuve, dans les conditions de l'expérience, d'une aptitude individuelle à coloniser différents hôtes. Cette aptitude ne semble en relation ni avec l'origine, ni avec certaines caractéristiques telles que la présence de la reproduction sexuelle ou l'intensité de la sporulation asexuelle en culture pure. La situation observée dans notre collection est donc celle d'un ensemble polymorphe pour les caractères pathogènes au même titre que pour les autres caractères précédemment étudiés.

Afin de compléter cette analyse, nous allons tenter de comparer les différents isolats par l'évaluation quantitative de leur pouvoir pathogène.

### 1.3. EVALUATION QUANTITATIVE DU POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS

Les travaux conduits par ISLAM et AHMED (1964), CHOUDHURY et AHMED (1969) sur l'anthracnose du jute *Corchorus* sp. montrent, entre autre, que cette plante réagit de façon très progressive aux inoculations lorsque celles-ci sont effectuées par injection d'inoculum dans la tige. Les différences d'agressivité chez les isolats testés se traduisent par des différences marquées dans la dimension des chancres de tige pour un même cultivar.

Transposant ces résultats, nous avons procédé à des inoculations systématiques de tous les isolats de notre collection sur trois variétés de *Corchorus capsularis* : Lisa, AS2 et Branca, et deux variétés de *C. olitorius* : AS4 et BZ5. Les plants cultivés en pots sont inoculés à l'âge de 1 mois par piqure de la tige à 3cm en-dessous de l'apex et injection de 1cm<sup>3</sup> d'une suspension de conidies du champignon. L'incubation dure quarante-huit heures en chambre climatisée, en atmosphère saturée en humidité. Les lectures de symptômes sont effectuées dix jours près l'inoculation. Elles consistent à mesurer la longueur du chancre développé à la suite de l'introduction du champignon dans la tige. Chaque série d'inoculation est accompagnée d'un lot témoin recevant dans les mêmes conditions une injection d'eau stérile.

Ne disposant que d'un petit lot de semences de la variété BZ5 de *C. olitorius*, chaque inoculation a été effectuée sur vingt plants seulement. Pour toutes les autres variétés, chaque isolat a été inoculé sur quarante plants.

Les résultats obtenus conduisent à établir une hiérarchie des symptômes selon leur importance en quatre classes auxquelles sont respectivement attribuées les notes 0, 1, 2 et 3 :

- 0 : blessure cicatrisée, la nécrose sur tige n'excède pas 3mm de longueur.
- 1 : chancre de petite dimension, compris entre 3 et 7mm correspondant à une lésion marquée des tissus mais sans évolution ultérieure.
- 2 : chancre de grande dimension, supérieur à 7mm, traduisant une



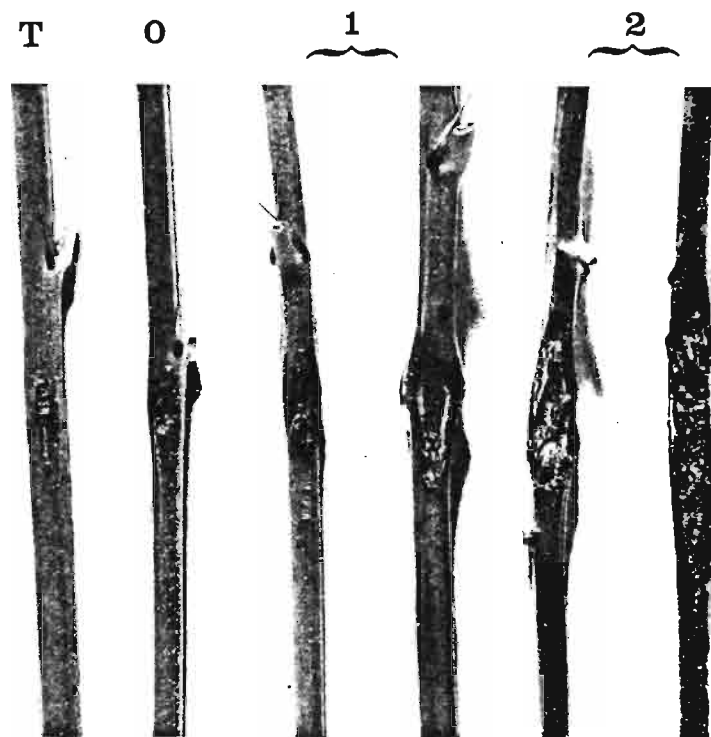
Lot inoculé et lot témoin.



Symptômes obtenus deux semaines après inoculation de l'isolat Ro du rosier .

Planche VII. Inoculations artificielles sur plantes de jute  
(variété AS4 du *Corchorus olitorius*).





Chancres sur tiges de jute illustrant les différentes notations des symptômes.

Note 3 de l'échelle  
des symptômes:  
dessèchement de  
l'apex et mort de  
la plante.



altération profonde des tissus de la plante, pouvant être accompagné de taches nécrotiques apparaissant tout le long de la tige et témoignant de la progression du champignon dans la plante.

3 : dessèchement de l'apex entraînant la mort de la plante.

Pour chaque isolat est établi un diagramme dans lequel figure l'effectif des plantes de chaque variété par classe de symptôme (fig. 19). Un indice moyen d'agressivité I est calculé de façon à tenir compte des fluctuations dans les réactions des plantes d'un même lot. Sa formulation est la suivante :

$$I = \frac{\sum R_i}{N}$$
 où R est la note affectée à chaque plante : 0, 1, 2 ou 3 selon la gravité des symptômes et N est le nombre total des plantes inoculées. Cet indice peut donc varier de 0 pour les isolats non pathogènes à 3 pour ceux qui sont capables de détruire toutes les plantes auxquelles ils ont été inoculés.

Nous avons ainsi évalué l'agressivité de chacun des isolats à l'égard des trois variétés de *Corchorus capsularis* et des deux variétés de *C. olitorius* (tableau 13).

Le classement des individus suivant la valeur de l'indice I (fig. 20) montre que leur comportement est remarquablement homogène à l'égard des trois variétés de *C. capsularis*. Une grande majorité des isolats fait preuve d'une agressivité faible mais régulièrement progressive entre les valeurs 0 et 1 de l'indice. A ce niveau, les différences ne sont pas significatives et la position respective des individus n'a sans doute que peu de valeur.

A partir du niveau 1 de l'indice, on constate que quatre isolats se détachent : Di Hv Ro et Pt caractérisés par une agressivité élevée et pratiquement du même ordre de grandeur sur les trois variétés. L'isolat Agl se classe également de façon presque constante autour de la valeur 1 de l'indice.

Les courbes de répartition des isolats pour leur agressivité à l'égard des deux variétés de *C. olitorius* sont sensiblement différentes dans la mesure où la distinction des valeurs est beaucoup moins progressive. Dans le cas de B25 particulièrement, la distribution suggère plus une réaction de type tout

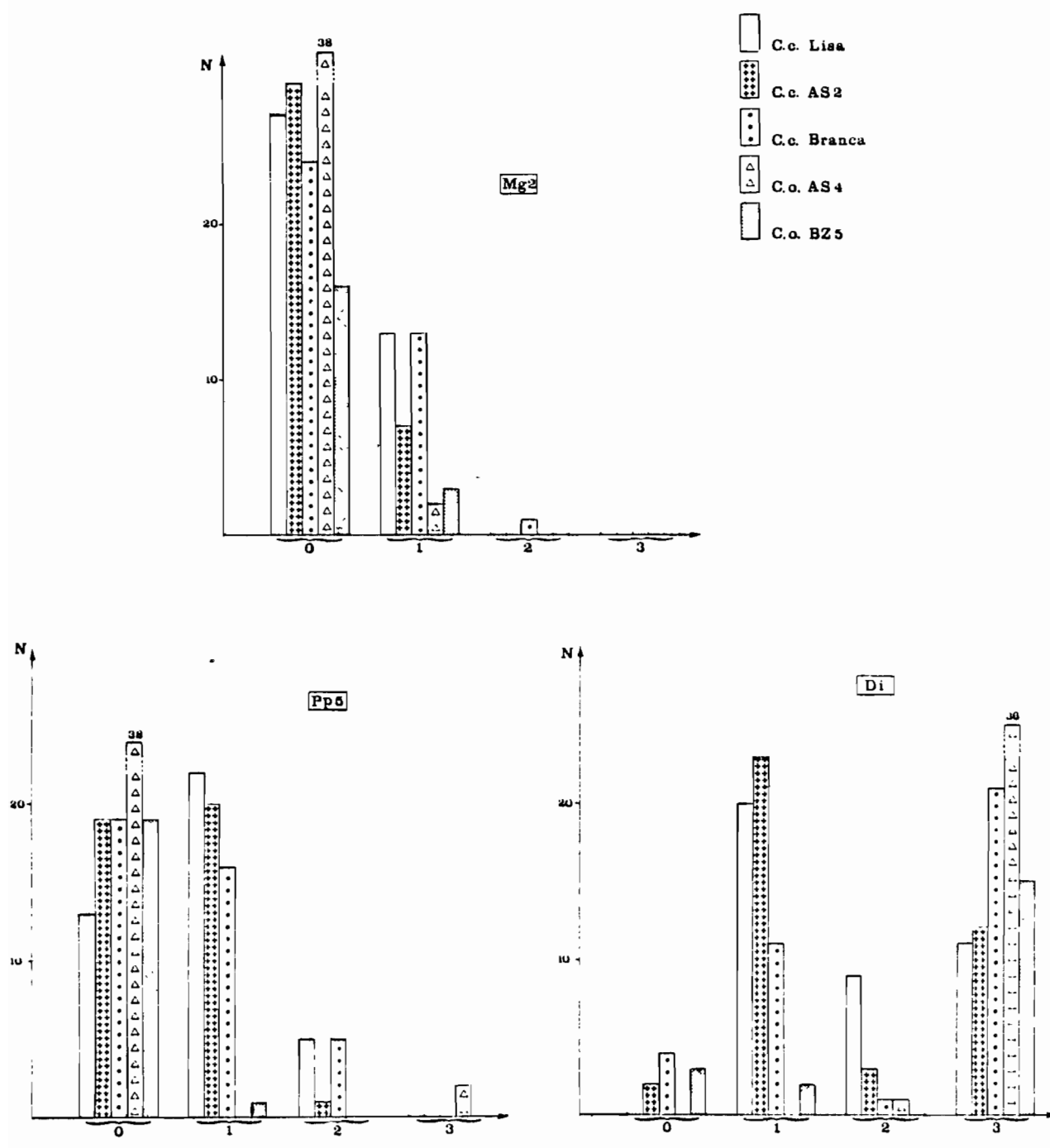


Figure 19. Diagrammes illustrant le pouvoir pathogène de quelques isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* à l'égard de plants de jute.

Les coordonnées représentant l'effectif des plantes par classe de symptômes.

- Mg2 isolat du manguier caractérisé par une agressivité faible
- Pp5 isolat du papayer caractérisé par une agressivité moyenne
- Di isolat du *Diffenbachia* caractérisé par une agressivité élevée.

Tableau 13 : Evaluation de l'agressivité d'isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* à l'égard de différentes variétés de jute.

Isolats	<i>Corchorus capsularis</i>						<i>Corchorus olitorius</i>			
	Lisa		AS2		Branca		AS4		B75	
	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I
Ag1	40	1,03	39	0,87	40	1,03	36	2,11	16	1,56
Ag	40	0,45	37	0,51	38	0,55	36	0,06	20	1,65
Av	39	0,46	40	0,48	31	0,45	40	0,13	18	0
Bn	40	0,58	40	0,48	40	0,18	40	0,05	20	0
Br	40	0,45	40	0,63	35	0,49	40	0,13	19	0,32
Ca	40	0,05	40	0,60	39	0,69	40	0	20	0
Cf1	40	0,58	40	0,60	38	0,60	38	0,08	17	0,06
CE2	40	0,20	40	0,43	40	0,25	40	0,05	20	0,10
Ce	40	1,00	39	0,79	40	0,58	36	0,14	20	0
Cr	40	0,48	40	0,78	38	0,97	40	0,53	17	0,29
Ct	40	0,45	40	0,88	36	0,69	37	0	16	0,13
Di	40	1,78	40	1,63	37	2,05	37	2,97	20	2,35
Fv	39	0,41	40	0,28	36	0,56	40	0,08	20	0,05
Hv	40	1,15	40	1,55	39	1,62	40	2,65	20	2,00
Ig	40	0,15	38	0,47	39	0,21	40	0,08	19	0,16
Kf	40	0,63	40	0,50	37	0,51	40	0,78	20	0,05
Mg1	40	0,15	40	0,23	38	0,24	38	0	17	0,06
Mg2	40	0,33	36	0,19	38	0,39	40	0,05	20	0,15
Mc	20	0,30	20	1,00	20	0	20	0	19	0
P18	36	0,44	40	0,50	38	0,29	40	0,05	20	0
P110	40	0,33	37	0,19	40	0,55	20	0,05	20	0,05
Pp1	40	0,58	40	0,73	40	0,68	40	0	20	0,10
Pp2	40	0,78	40	0,55	40	0,38	40	0,08	20	0,05
Pp3	40	0,38	40	0,50	40	0,53	38	0	20	0,20
Pp4	40	0,73	40	0,78	40	0,63	40	0,40	20	0,20
Pp5	40	0,80	40	0,55	40	0,66	40	0,15	20	0,05
Pt	15	2,33	20	1,55	20	1,60	20	0	20	0
Ph	40	0,53	40	0,30	38	0,95	40	1,08	20	0
Pil	40	0,45	40	0,30	39	0,08	40	0,05	20	0,10
Pi2	37	0,38	40	0,35	37	0,57	20	0,25	-	-
Rz	36	0,69	40	0,38	39	0,62	39	0,08	20	0
Ro	40	2,08	39	2,23	38	2,82	40	2,55	20	1,85
Si	40	0,73	39	0,90	38	0,53	37	1,41	20	1,90
To	40	0,45	40	0,68	37	0,08	40	0,53	17	0,24

N : nombre de plantes  
inoculées

I : indice d'agressi-  
vité

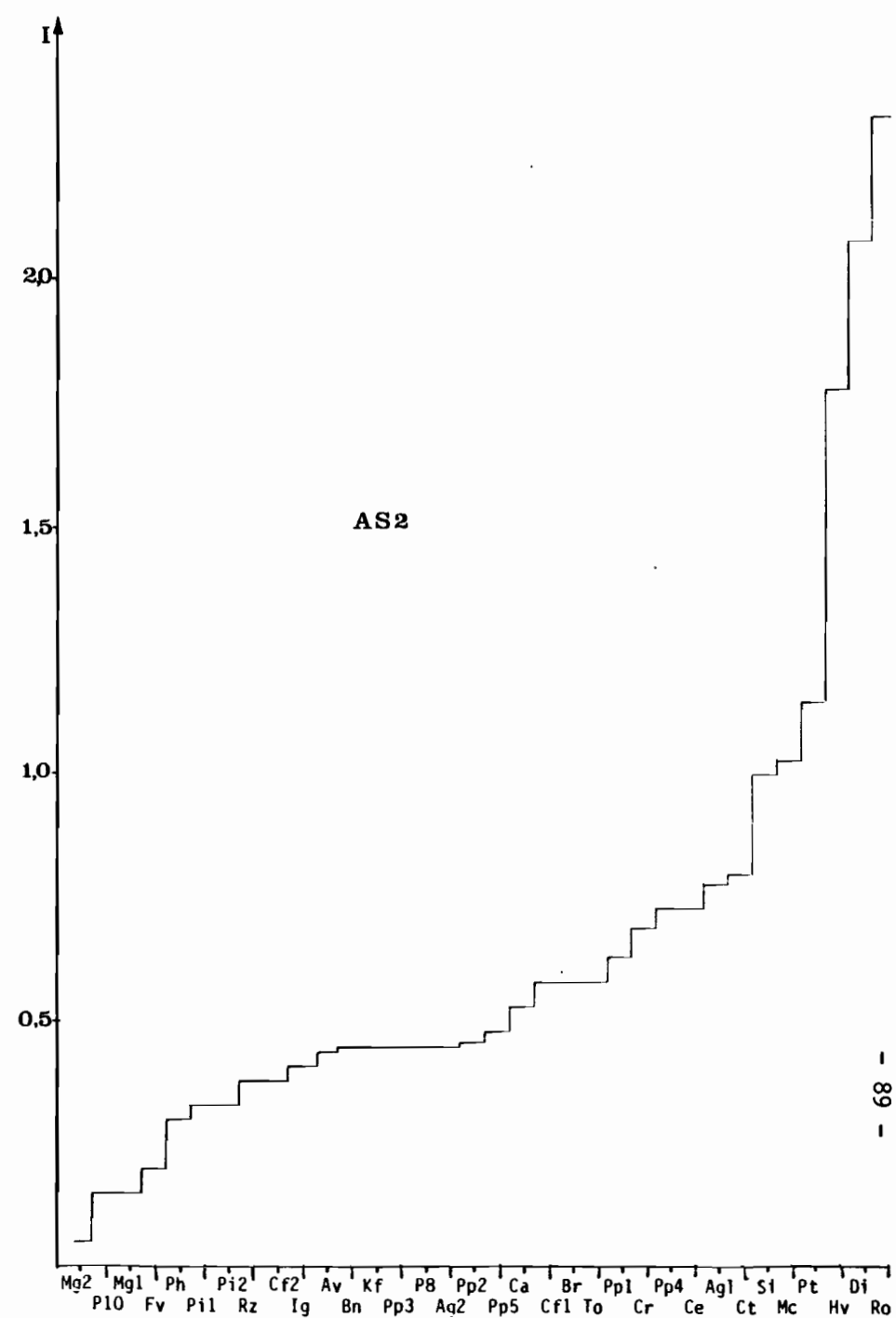
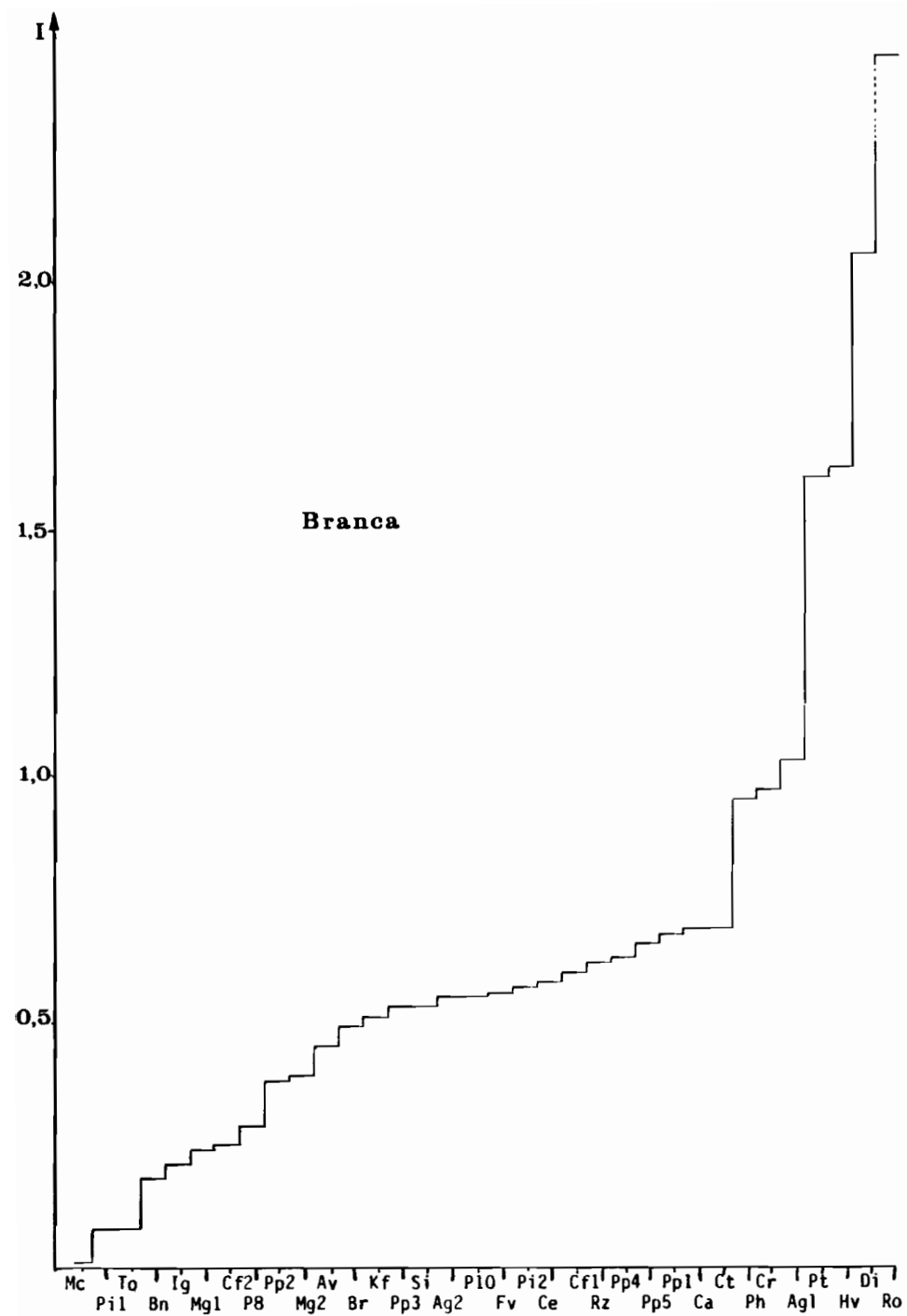
ou rien qu'une réaction graduelle à l'infection. On retrouve cependant les mêmes isolats Hv Di et Ro associés à Si et Agl, à un niveau élevé de pathogénie.

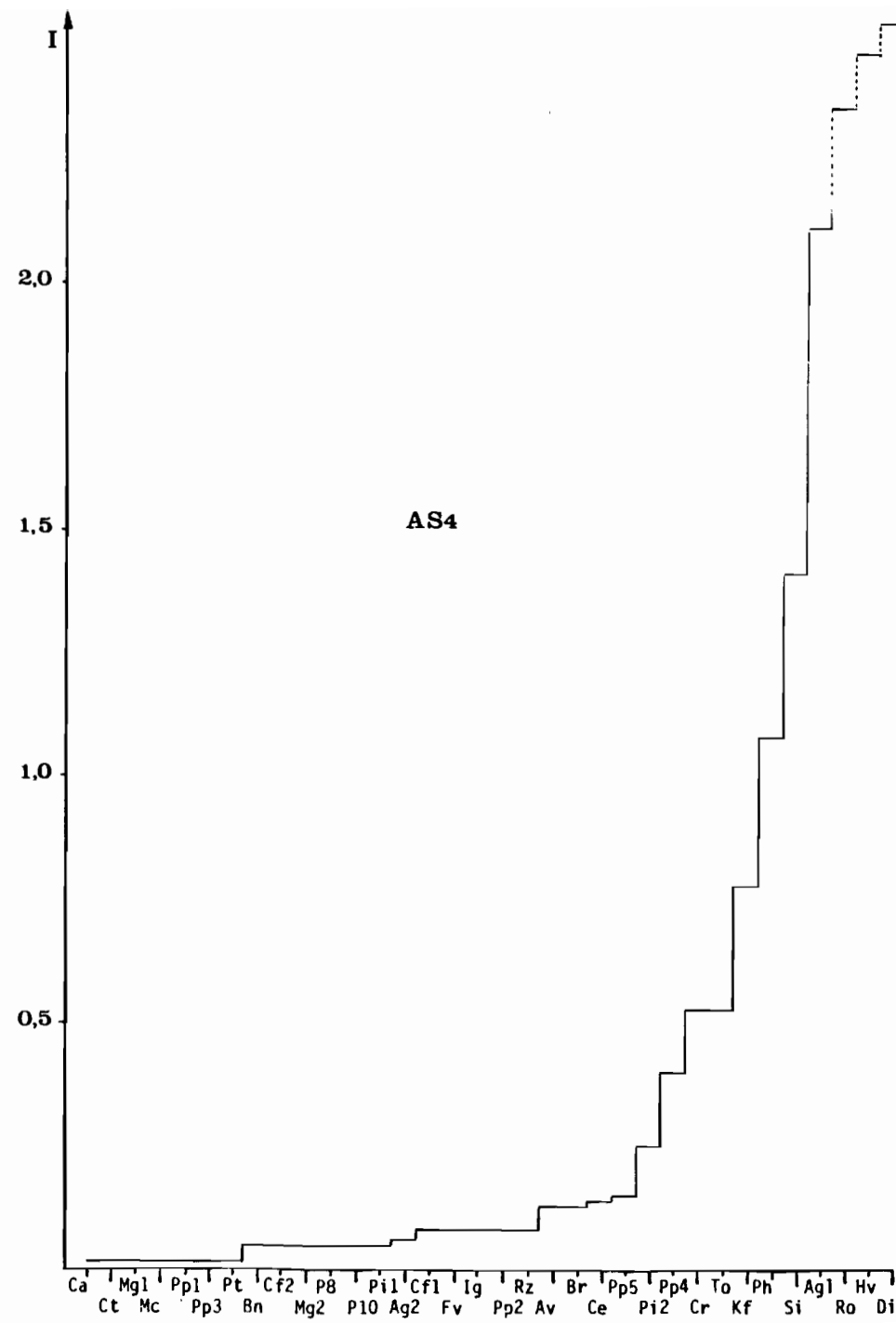
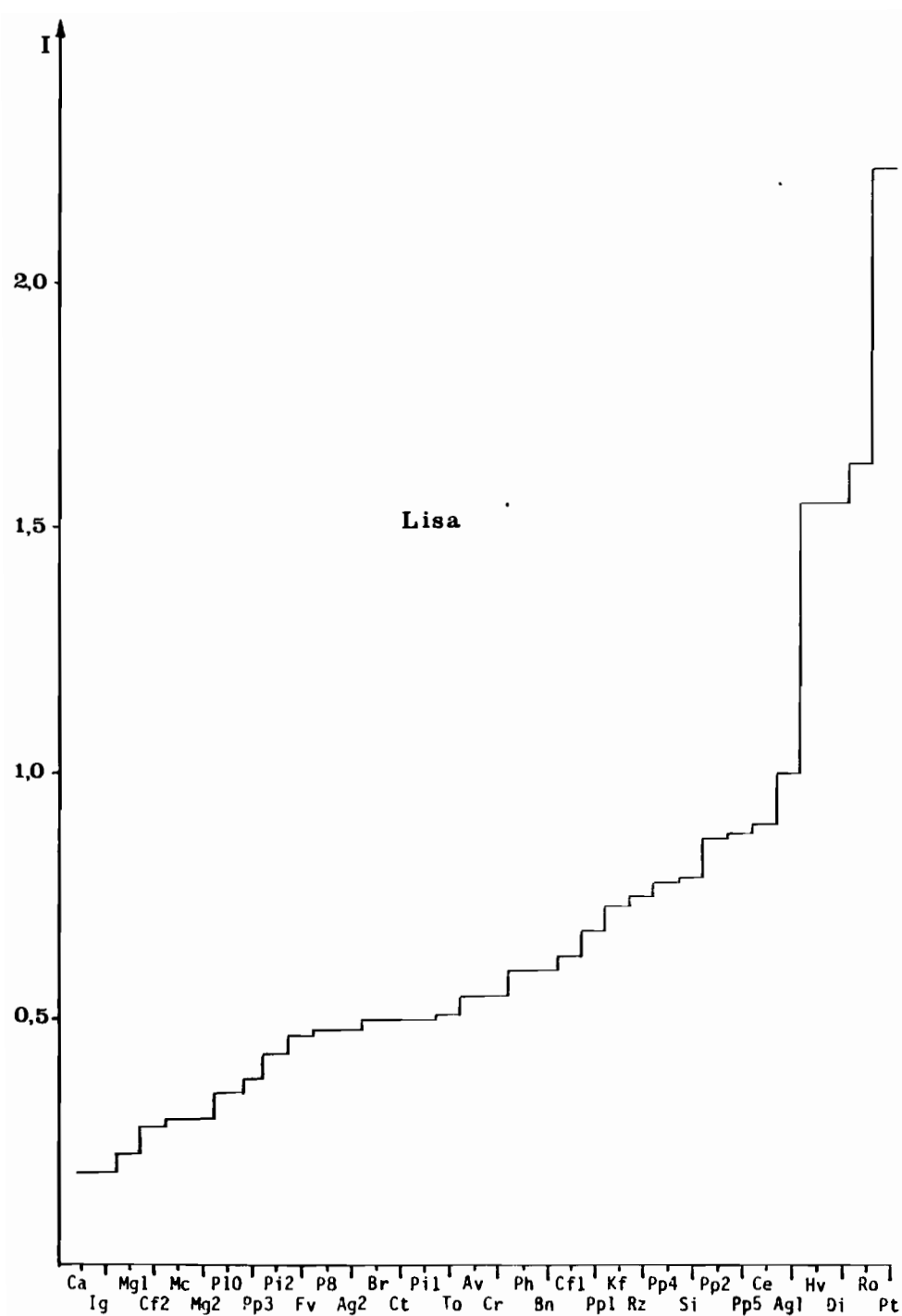
Il faut remarquer quelques exceptions à cette tendance générale. Les isolats de la patate douce (Pt) et du Sipo (Si) présentent un pouvoir pathogène plus nettement différentiel dans la mesure où ils se montrent très agressifs pour une seule des deux variétés. A un degré moindre, les isolats de l'aubergine (Ag), de l'orgueil de Chine (Ce) et du manioc (Mc) se comportent différemment selon la variété.

Cependant, dans la majorité des confrontations, la plupart des isolats font preuve d'une relative stabilité dans leur comportement pathogène quel que soit le cultivar. Cette caractéristique est remarquable pour les isolats les plus agressifs : Hv de l'hévéa, Di du *Diffenbachia* et Ro du rosier, auxquels on peut associer l'isolat de l'aubergine locale Agl à un niveau d'agressivité un peu plus faible. Elle est toute aussi significative pour la plupart des isolats qui manifestent une faible agressivité.

Afin d'ordonner ces résultats, nous avons effectué une comparaison de tous les individus sur la valeur globale de leur pouvoir pathogène à l'égard des cinq variétés de jute. Le test de KOLMOGOROV et SMIRNOV a été utilisé à cet effet. Il consiste dans son principe à comparer deux à deux des distributions, à déterminer l'écart maximum en valeur absolue entre celles-ci puis à comparer cet écart à une valeur critique. Dans notre cas, ces distributions correspondent pour chaque isolat aux effectifs cumulés des plantes dans chacune des classes de symptômes. L'illustration du test par la méthode de l'ombrage différentiel (fig.21) permet de distinguer les différents ensembles selon le niveau de signification des écarts entre les distributions.

Ainsi, deux groupes d'isolats se séparent significativement (seuil de 1 p.100) de l'ensemble. Le premier groupe caractérisé par le niveau d'agressivité le plus élevé est composé des isolats du rosier (Ro), du *Diffenbachia* (Di) et de l'hévéa (Hv). Viennent ensuite les isolats de l'aubergine locale (Agl), de la patate douce (Pt) et du Sipo (Si) qui constituent le deuxième groupe dont le niveau d'agressivité est encore remarquable. Puis de façon progressive et or-





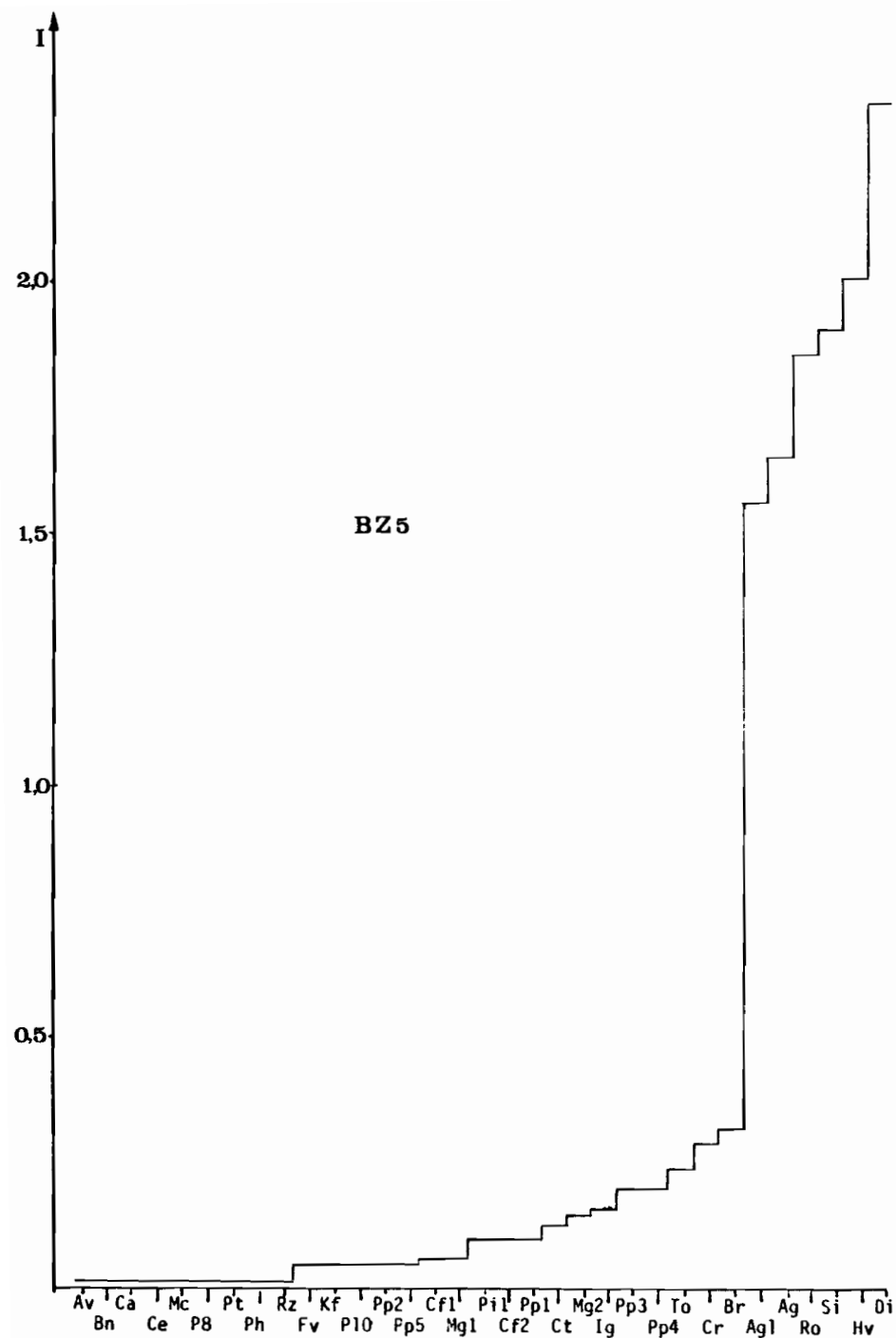


Figure 20.

Classement des isolats par ordre croissant  
d'agressivité à l'égard de chacune des  
variétés de jute.

-	Variété	AS2	}	<i>Corchorus capsularis</i>
-	"	Branca		
-	"	Lisa		
-	"	AS4	}	<i>Corchorus olitorius</i>
-	"	BZ5		



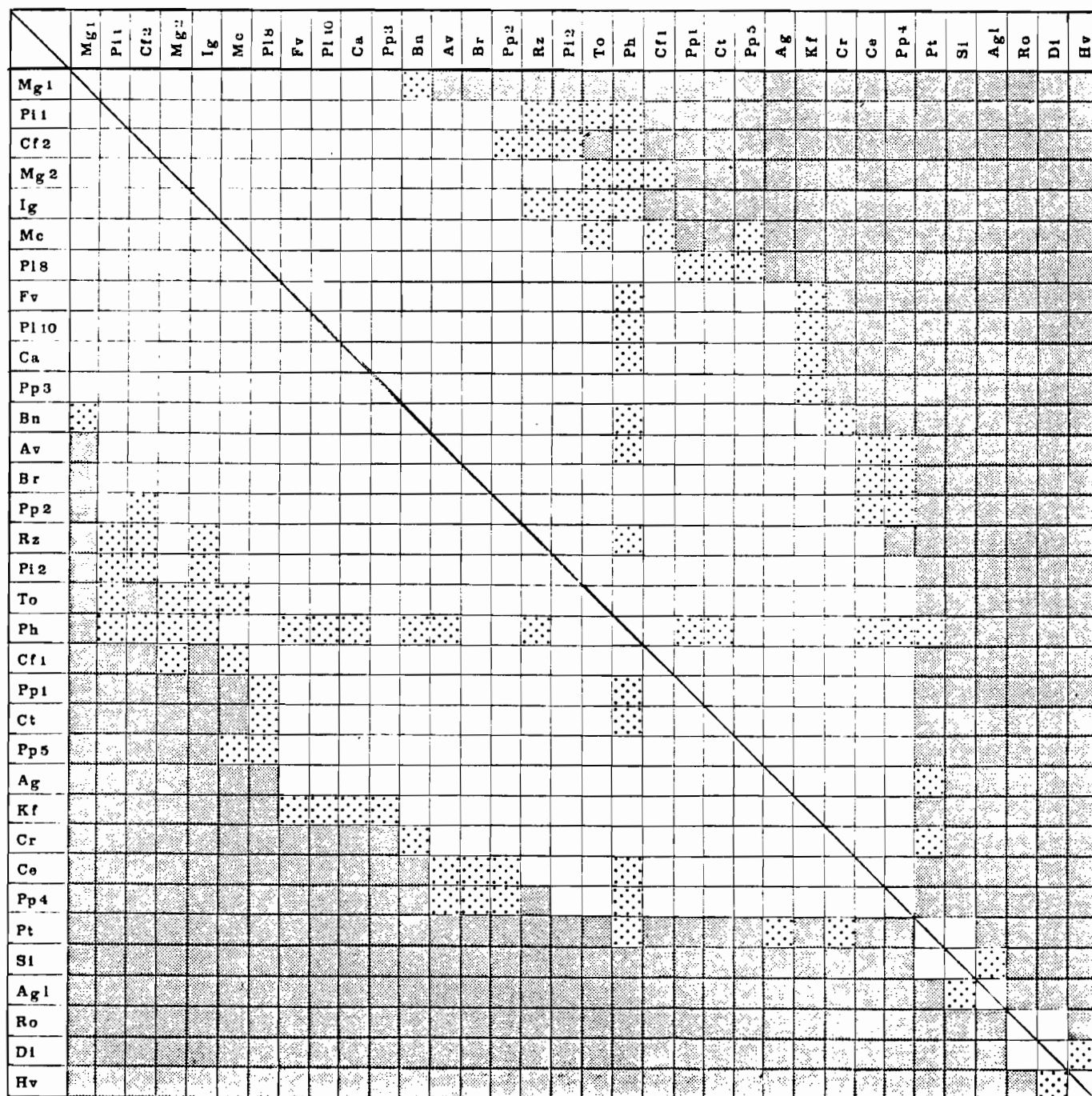





Figure 21 : Comparaison à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* à l'égard de cinq variétés de jute.

-  : significativement différents au seuil de 1p.100
-  : différents au seuil de 5p.100
-  : non significativement différents.

donnée, le classement de tous les autres isolats s'établit selon des valeurs décroissantes du pouvoir pathogène dans son expression quantitative évaluée par l'indice I.

Cette classification cohérente et ordonnée traduit vraisemblablement le fait que l'expression quantitative du pouvoir pathogène est une caractéristique dominante du taxon *C. gloeosporioides*. Mettant en jeu des systèmes géniques complexes, cette caractéristique repose sans doute sur une large base génétique dont l'existence serait par ailleurs à l'origine de la variabilité observée au niveau des caractères phénotypiques et biochimiques.

## 2. LE POUVOIR PATHOGENE CHEZ LES ISOLATS DE COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA

Le *C. graminicola* apparait beaucoup moins polyphage que le *C. gloeosporioides*. Cette espèce inféodée aux graminées semble cependant faire preuve d'une certaine variabilité dans l'expression de son pouvoir pathogène (LEBEAU 1950).

SUTTON (1968) considère que plusieurs unités taxonomiques peuvent être distinguées à partir de leur spécificité parasitaire. En désaccord avec la révision systématique de Von ARX, cet auteur maintient la position taxonomique particulière des souches parasites de canne à sucre sous le taxon *C. falcatum*. Celles-ci présentent une spécificité très étroitement liée à leur hôte d'origine alors que les souches rencontrées sur les autres graminées peuvent être plus polyphages.

En complément des observations déjà effectuées sur les isolats réunis dans notre collection, nous avons essayé de déterminer la nature et l'étendue de leur pouvoir pathogène.

Nous avons procédé à plusieurs séries d'inoculations sur onze hôtes différents appartenant à cinq espèces de graminées (tableau 14).

Tableau 14 : Plantes utilisées pour les inoculations expérimentales des isolats de *C. graminicola*

Espèce botanique	Variété	Origine
<i>Saccharum officinarum</i>	N 51-186	Ile Maurice (Collection ORSTOM)
" "	CO 453	" " "
" "	L 60-25	" " "
" "	Q 51	" " "
<i>Sorghum vulgare</i>	Local	Touka (Mali) (Collection ORSTOM)
<i>Pennisetum spicatum</i>	Local	Touka (Mali) (Collection ORSTOM)
<i>Panicum maximum</i>	Clone K 187	Korogwe (Tanzanie) (Collection ORSTOM)
<i>Zea mays</i>	Tuxpeno I	Mexique (Collection IRAT)
" "	C P J	Caraïbes " "
" "	C J B	Côte d'Ivoire " "
" "	18 F	Côte d'Ivoire " "

Ces plantes ont été cultivées au laboratoire soit à partir de boutures pour les cannes à sucre, soit à partir de semis pour les autres espèces, en pots contenant le mélange habituel de sable et vermiculite arrosé par une solution de Knop.

Une première série d'inoculations expérimentales a été effectuée par pulvérisation de l'inoculum à l'aide d'un pistolet pneumatique sur l'ensemble du système foliaire des plantes.

Cette inoculation s'est soldée par un échec total quelle que soit la confrontation isolat/plante considérée. Il semble qu'une situation identique à celle observée lors de l'étude des *C. gloeosporioides* se présente ici. Les isolats sont sans doute dépourvus de l'agressivité suffisante pour pénétrer les tissus de plantes vigoureuses indemnes de blessure ou de traumatisme.

Les inoculations ont été reprises en injectant l'inoculum par piqûre de la tige à la base de la jeune feuille non encore déroulée.

Les plantes sont ensuite placées dans une chambre climatisée sous humidité saturante pendant quarante-huit heures, puis maintenues pendant une semaine à la température de 23-25°C à 80-90% d'humidité relative. La lecture des symptômes est effectuée dix jours après l'inoculation.

Les résultats consignés dans le tableau 15 ont été regroupés par espèce car aucune différence nette n'a pu être notée entre les divers clones de canne à sucre ou de maïs. De même, bien que les types de réaction puissent différer d'une plante à l'autre, en particulier au niveau des colorations anthocyaniques, nous avons uniformiser les notations.

Les résultats sont suffisamment nets pour dégager les observations suivantes :

- les isolats canne à sucre peuvent être considérés comme pathogènes pratiquement exclusifs de leur hôte d'origine. Une légère variabilité peut être décelée entre les différents isolats, CS1 paraissant moins agressif que les trois autres.

Tableau 15 : Inoculations expérimentales des isolats de *Colletotrichum graminicola* sur différentes espèces de graminées.

Hôtes \ Souches								
	CS1	CS2	CS3	CSF	SO	SOG	Mi	MF1
<i>Saccharum</i>	+	++	++	++	-	-	-	-
<i>Sorghum</i>	-	±	-	±	++	++	+	+
<i>Zea mays</i>	-	-	-	-	-	-	++	++
<i>Panicum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pennisetum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

+ + : grandes taches nécrotiques évolutives

+ : taches nécrotiques peu développées

± : taches chlorotiques ou pigmentées en rouge = non nécrosées

- : pas de symptômes

- les isolats du sorgho à l'image des précédents ne présentent d'aptitude parasitaire que vis à vis du sorgho sans distinction de l'origine géographique des souches.

- les isolats du maïs sont pathogènes sur le maïs où ils provoquent des symptômes très marqués, mais également sur le sorgho. Les différences enregistrées dans les réactions sur les deux espèces sont d'ordre quantitatif. Ceci semble indiquer que les isolats Maïs, moins spécifiques, sont aptes à parasiter différentes espèces de graminées selon des niveaux d'agressivité variables.

A l'égard de la gamme d'hôtes testés, les isolats ne peuvent pas être séparés selon leur origine géographique.

Il est par ailleurs intéressant de noter qu'aucun de nos isolats n'est pathogène vis à vis du *Panicum maximum* ou du *Pennisetum spicatum* alors que ces deux espèces figurent sur la liste des hôtes possibles de ces parasites. Ceci laisse présager l'existence, au sein de l'espèce *C. graminicola*, d'autres pathotypes présentant une spécialisation parasitaire assez étroite.

Ainsi, les données obtenues après cette analyse qualitative du pouvoir pathogène se révèlent très discriminantes pour séparer les isolats qui font preuve à l'intérieur d'un même ensemble spécifique d'une grande homogénéité. La différenciation pour le caractère de pathogénie est très marquée, particulièrement chez les isolats de canne à sucre et du sorgho. Cette différenciation qui était déjà nettement apparue à l'examen des caractéristiques morphologiques et enzymatiques donne l'image, pour l'espèce *C. graminicola* sensu Von ARX, d'un ensemble d'entités bien structurées, aisément identifiables, qui mériteraient sans doute un statut particulier.

## DISCUSSION

---

### 1. DONNÉES RELATIVES À L'ESPÈCE COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES

La première partie de notre analyse, concernant la morphologie des thalles en culture pure, montre que différents isolats rapportés à *C. gloeosporioides* sensu Von ARX présentent une grande diversité de types cultureux. Cette diversité traduit une importante variabilité phénotypique qui semble caractéristique du genre *Colletotrichum* et de sa forme parfaite *Glomerella*. De nombreux auteurs l'ont en effet largement soulignée, particulièrement chez le *C. gloeosporioides* (EDGERTON 1908, RAMSEY et al. 1951, STIPES et WINSTEAD 1964, WASTIE et SANKAR 1970, *inter alia*).

Les caractères morphologiques étudiés recouvrent des données relatives au faciès cultural, à la biologie du champignon et à la biométrie des spores asexuelles dont l'intégration par l'analyse numérique permet d'obtenir une image synthétique du phénotype de chaque culture clonale.

Trois des caractères retenus constituent habituellement des critères de classification : l'existence de la forme sexuelle, la dimension des conidies et les températures cardinales de croissance. Chacun d'eux apporte des informations différentes sur l'interprétation que l'on peut donner à la variabilité enregistrée.

La présence de fructifications sexuelles en culture est caractéristique de l'espèce *Glomerella cingulata*. Cette caractéristique concerne près de la moitié de l'effectif réuni dans notre collection et constitue un simple critère de distinction entre les isolats. Depuis SMALL (1926), il est en effet largement reconnu que les deux espèces *C. gloeosporioides* et *G. cingulata* re-

présentent deux formes d'un même organisme. Les variations enregistrées sur les caractéristiques biométriques des périthèces sont très faibles et ne permettent pas de distinguer des différences significatives entre les individus.

Les variations sont beaucoup plus importantes pour le caractère de longueur des conidies dont la valeur moyenne s'étend de 9,30  $\mu\text{m}$  à plus de 19  $\mu\text{m}$  selon les isolats. Ces données sont tout à fait comparables à celles obtenues par STIPES (1965) et s'inscrivent convenablement dans les limites admises par Von ARX (1957). Il semble donc que ces variations soient à considérer comme l'expression d'une variabilité intraspécifique. Cette hypothèse est confortée par le fait que les mesures de largeur des conidies ne constituent pas un caractère discriminant étant donné leur relative homogénéité. Or, STEPHAN (1967) considère justement que la largeur des conidies doit être admise comme un des caractères déterminants de la délimitation des espèces. A cet égard, nos valeurs sont du même ordre que celles données par cet auteur pour l'espèce *C. gloeosporioides*.

En ce qui concerne les températures cardinales de croissance, tous les isolats se comportent de façon pratiquement identique. La croissance du mycélium s'inscrit entre les mêmes valeurs limites de 20 et 35°C avec un optimum situé entre 27 et 30°C. Les vitesses de croissance à l'optimum de température représentent par contre un élément discriminant. Ce caractère peut constituer dans quelques cas un critère de reconnaissance. Pour l'isolat du bananier (Bn) en particulier, il semble que la croissance rapide du thalle à 27°C soit une caractéristique constante et spécifique que l'on retrouve chez les isolats de Guadeloupe (FOURNET 1973) ou d'Australie (SIMMONDS 1965), bien qu'il présente par ailleurs de nombreuses caractéristiques communes à d'autres isolats (SIMMONDS loc. cit.).

Toutes ces informations relatives au polymorphisme enregistré dans l'expression des caractères taxonomiques semblent donc bien correspondre à une variabilité intraspécifique. Celle-ci s'exprime de la même façon au niveau de simples caractères phénotypiques tels que l'abondance du mycélium aérien, le nombre et la répartition des acervules sur le thalle ou la présence de soies au sein de celles-ci.



S'il est possible de faire des distinctions nettes entre quelques isolats pour un caractère déterminé, seule une analyse synthétique intégrant l'ensemble des caractères différentiels peut donner une image convenable de la variabilité. Cette analyse effectuée grâce aux méthodes de la taxonomie numérique révèle que des structures de groupes existent au sein de l'ensemble étudié. Ces groupes apparaissent cependant peu individualisés et ne semblent représentatifs d'aucune tendance marquée pour une différenciation liée à l'origine parasitaire, à l'origine géographique ou à une quelconque particularité biologique des individus. Il convient sans doute de les considérer comme de simples morphotypes au même titre que les types cultureux déterminés par FOLLIN (1969) chez les *Colletotrichum* du cotonnier ou par STEPHAN (1967) chez des isolats de *C. gloeosporioides* de différentes origines. Ils sont la traduction phénotypique d'un large polymorphisme génétique.

Les incertitudes de la taxonomie des *Colletotrichum* liées à l'importante variabilité phénotypique justifient la recherche de nouveaux critères de description. L'application des techniques d'électrophorèse des protéines à la résolution des problèmes taxonomiques constitue une approche nouvelle dans la connaissance des organismes vivants. HALL (1973) a montré que les données biochimiques peuvent contribuer largement à une meilleure définition des ensembles biologiques chez les champignons, particulièrement lorsque les caractères morphologiques sont trop inconstants pour fournir le support unique d'une classification. L'électrophorèse des protéines a par ailleurs été appliquée avec succès chez d'autres organismes tels que les bactéries (KERSTERS et DE LEY 1975), les algues (DERBYSHIRE et WHITTON 1968) et même les plantes supérieures (BOULTER et al. 1966).

C'est donc tout naturellement dans cette voie que nous avons poursuivi la description et la comparaison des isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* de notre collection. Les éléments qui ressortent de l'analyse des différentes activités enzymatiques nous semblent tout à fait concordants avec les résultats obtenus à partir de l'étude morphologique. La collection apparaît comme un ensemble d'individus différents n'ayant qu'une communauté génétique très faible si l'on considère la grande diversité des zymogrammes et l'absence de bandes communes. Ceci explique, en partie tout au moins, que chaque activité

enzymatique étudiée conduit à des regroupements différents entre les isolats. Les affinités entre certains d'entre eux pour les activités LAP et phosphatases acides sont sans doute beaucoup plus le fait de regroupements circonstanciels que le reflet d'un déterminisme particulier.

Ces résultats apparaissent assez éloignés des données recueillies chez d'autres cryptogames comme les *Mucor* (STOUT et SHAW 1974) et les *Phytophthora* (BABACAUH 1980, GILL et ZENTMYER 1978) où l'analyse électrophorétique contribue positivement à la reconnaissance des espèces et même à la distinction entre différentes populations pathogènes d'une seule espèce. De ce fait, il convient d'admettre que l'absence d'organisation visible par l'électrophorèse correspond à la nature même du taxon. Mc COMBS et WINSTEAD (1963) ainsi que STIPES (1965) analysant différentes souches de *Glomerella cingulata* avaient déjà constaté que les spectres protéiques ne montraient que des homologies très partielles, tandis que les zymogrammes étaient très hétérogènes. Ils attribuaient cette hétérogénéité à la variabilité naturelle du champignon. Nos résultats semblent renforcer cette hypothèse et peuvent être rapprochés de ceux obtenus chez le *Rhizoctonia solani* (CLARE et al. 1968) où l'ampleur des variations observées confirme la notion d'"espèce agrégat" formulée par BIGGS (1937).

Les isolats de *C. gloeosporioides* de Côte d'Ivoire représentent vraisemblablement des entités indépendantes d'un même complexe spécifique au sein duquel aucune structure organisée ne peut être révélée, pas plus par l'analyse biochimique que par l'étude morphologique.

L'étude du pouvoir pathogène des isolats apporte des informations complémentaires des deux analyses précédentes et nous pouvons considérer que les résultats apparaissent dans la logique des conclusions partielles auxquelles nous avons précédemment abouti. Deux éléments importants sont à dégager de ces résultats. Chaque isolat dispose d'un pouvoir pathogène étendu à des espèces hôtes différentes de celle sur laquelle il a été prélevé et cette aptitude peut être plus ou moins développée selon les individus. D'autre part, les isolats sont aisément identifiables par leur niveau d'agressivité. Cette forme d'expression quantitative du pouvoir pathogène est distribuée de façon régulière au sein de la collection et permet d'établir une hiérarchie cohérente des isolats.

Ainsi, l'absence de spécificité parasitaire caractéristique des isolats de *C. gloeosporioides* vient s'ajouter au très large polymorphisme révélée par l'étude des caractères morphologiques et biochimiques et procède vraisemblablement d'un même déterminisme génétique. Le caractère polyphage de cette espèce implique que chaque individu ou population d'individus dispose d'une grande souplesse d'adaptation aux contraintes du milieu, en particulier aux plantes hôtes, et pour se faire doit mettre en jeu des systèmes géniques complexes. Nous savons en effet, depuis les travaux de FLOR (1956) puis les développements théoriques de VAN DER PLANK (1968) sur les relations génétiques hôte-parasite, que le pouvoir pathogène peut s'exprimer selon des modalités très spécifiques entre pathotypes du parasite et pathodèmes de l'hôte ou selon un processus beaucoup plus large n'impliquant pas de liaison préférentielle entre des génotypes complémentaires. Dans le premier cas, FLOR a montré que la relation s'établit selon une correspondance gène pour gène entre la plante et le parasite. Dans le deuxième cas, VAN DER PLANK considère que les systèmes géniques impliqués dans l'expression du pouvoir pathogène sont complexes. Cette distinction entre système vertical et système horizontal selon la terminologie de VAN DER PLANK, n'est qu'une vision théorique et simplifiée des mécanismes génétiques intervenant dans le développement du processus parasitaire et NELSON (1978) ne manque pas de le souligner. Les récentes analyses de PARLEVLIET et ZADOKS (1977) semblent montrer que les relations hôte-parasite s'inscrivent dans le cadre d'un système très large fondé sur la relation gène pour gène. Le nombre de gènes impliqués dans le processus parasitaire et leur fréquence au sein de la population pathogène déterminent le type de relation "vertical" ou "horizontal". Dans ce dernier cas, de nombreux gènes sont répartis dans la population du parasite, leurs effets sont modérés et d'amplitude variable à l'égard de la population hôte.

Les différences d'agressivité que nous enregistrons entre les isolats de notre collection à l'égard des différentes variétés de jute testée et le fait que cette agressivité soit distribuée de façon régulière dans l'échantillon étudié, sont des arguments en faveur de l'hypothèse polygénique. Chez le *C. gloeosporioides*, il est donc vraisemblable que les populations pathogènes reposent sur une base génétique large et diversifiée. L'hétérogénéité phénotypique enregistrée dans l'expression des caractères morphologiques, biochimiques et pathologiques traduit parfaitement cette structure éclatée en une mosaïque d'individus sans liaisons préférentielles apparentes à l'intérieur de l'ensemble (fig.22).

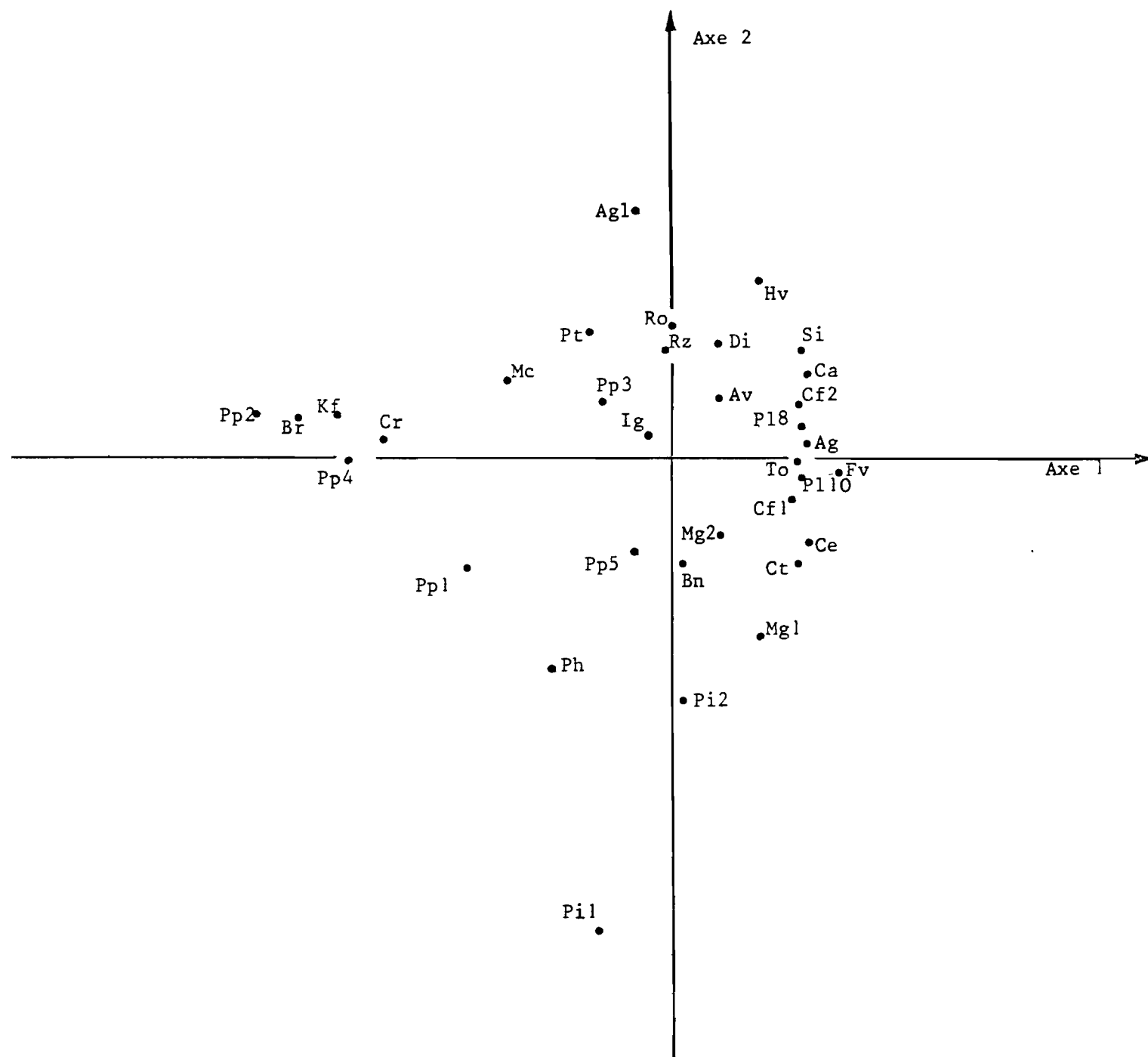


Figure 22. Analyse factorielle des correspondances sur l'ensemble des données relatives aux isolats de *Colletotrichum gloeosporioides*.

## 2. DONNÉES RELATIVES À L'ESPÈCE COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA

Dans cette espèce que nous avons étudiée à partir d'un nombre limité d'isolats, les différents éléments de l'analyse apportent des informations précises et concordantes sur la structure du taxon.

Dès l'observation des caractères morphologiques, il apparaît une différenciation assez marquée entre les isolats selon leur origine parasitaire. La structure du groupe que l'on peut dégager de l'analyse globale de tous les caractères met plus particulièrement en évidence l'étroite affinité des isolats de canne à sucre. Ceux-ci présentent un phénotype relativement homogène quant à leur faciès cultural et à la vitesse de croissance du mycélium, caractères distinctifs des autres isolats. Des variations relativement importantes peuvent toutefois être enregistrées au niveau de la mensuration des spores. Comme nous l'avons constaté avec le *C. gloeosporioides*, les fluctuations de ce caractère semblent être caractéristiques du genre *Colletotrichum*, aussi bien chez les espèces à spores falciformes que celles à spores droites. Elles traduisent vraisemblablement une variabilité inhérente à ces cryptogames.

L'analyse électrophorétique se révèle tout à fait complémentaire des données morphologiques dans la mesure où elle affine les séparations entre les groupes. Les spectres de protéines totales puis les zymogrammes de chacune des activités révélées permettent de distinguer sans ambiguïté les isolats de canne à sucre. Ceux-ci doivent être considérés comme un ensemble nettement différencié parmi les *Colletotrichum* spécifiques des graminées et leur filiation apparaît tout à fait évidente à la lecture des zymogrammes LAP et phosphatases acides. D'autre part, les isolats maïs et les isolats sorgho peuvent être séparés sur la base de leurs activités  $\alpha$ -estérases et phosphatases acides. Cette séparation sur les caractères biochimiques apporte un argument complémentaire aux conclusions de SUTTON (1968) qui suggère l'existence, au sein de l'espèce *C. graminicola*, de deux unités taxonomiques différentes regroupant respectivement les souches parasites du maïs et celles du sorgho et autres graminées.

L'étroite spécificité parasitaire manifestée par chaque isolat vient renforcer la délimitation des groupes déjà caractérisés par les données morphologiques et biochimiques. A l'opposé de la situation observée chez le *C. gloeosporioides*, les isolats inféodés à un hôte semblent constituer des "lignées" indépendantes dont les caractéristiques générales sont relativement homogènes malgré des origines géographiques parfois éloignées. La spécificité parasitaire s'accompagne donc d'une différenciation nette pour l'ensemble des caractères phénotypiques et il est vraisemblable que ces groupes distincts soient génétiquement isolés. L'analyse factorielle sur l'ensemble des données recueillies vient à l'appui de cette hypothèse (fig.23).

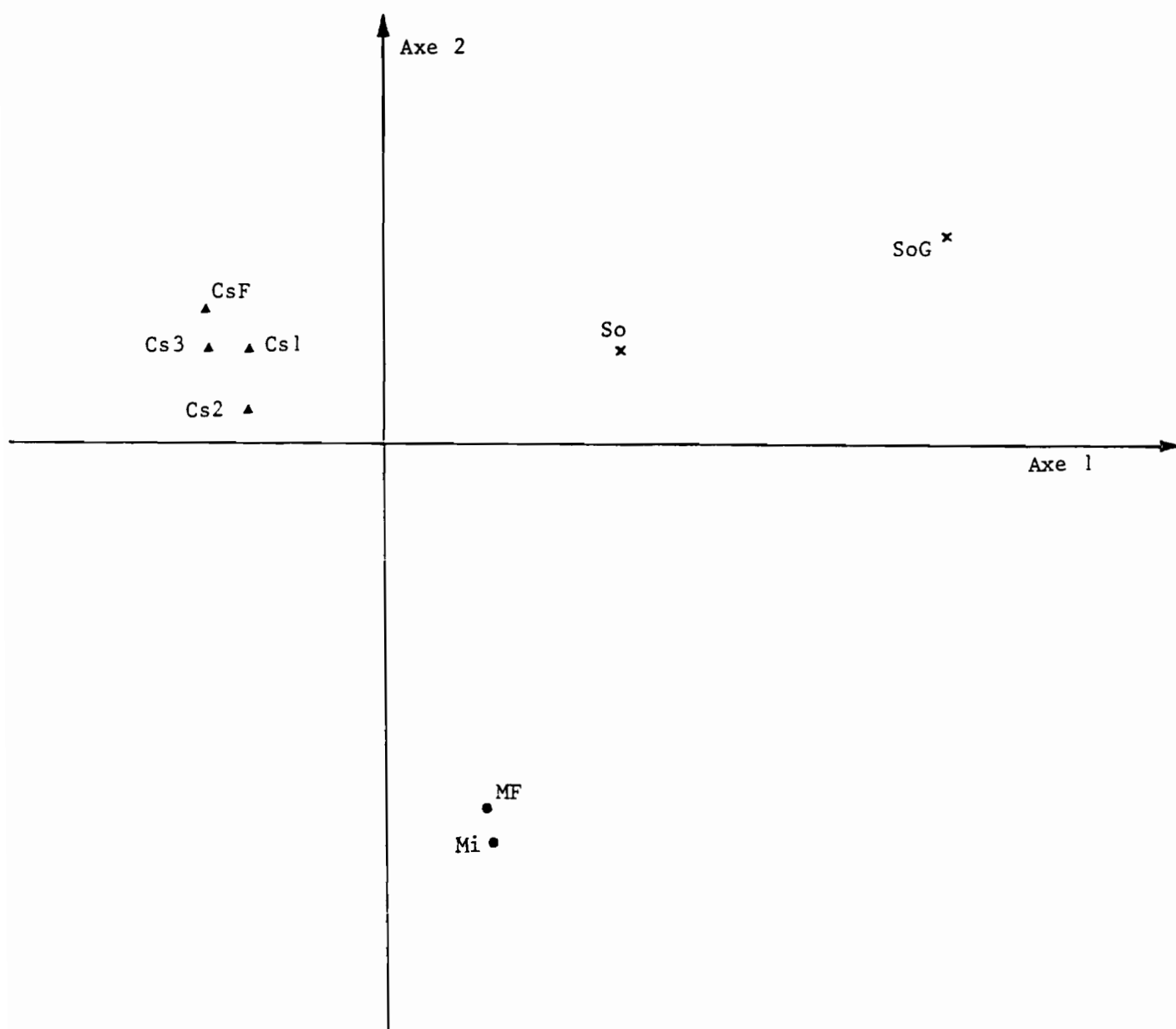


Figure 23. Analyse factorielle des correspondances sur l'ensemble des données relatives aux isolats de *Colletotrichum graminicola*.

## CONCLUSIONS

L'étude conduite sur quarante isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* collectés dans différentes régions de Côte d'Ivoire sur une grande variété d'hôtes avait pour but de mieux cerner les limites de ce vaste taxon. L'analyse d'un grand nombre de caractères sur l'ensemble des individus de l'échantillon pouvait également nous conduire à dégager une image synthétique de la structure de cet ensemble. Cette analyse a été développée sur la base de descripteurs morphologiques, biochimiques et pathologiques. Parallèlement, suivant les mêmes approches méthodologiques, une étude a été réalisée sur un nombre limité d'isolats de *Colletotrichum graminicola* afin de déterminer les principales caractéristiques de cette espèce.

L'observation des caractères morphologiques de cultures clonales montre que tous les isolats de *C. gloeosporioides* présentent les caractéristiques générales de l'espèce quant à la structure et le développement du mycélium, les modalités de la reproduction asexuelle et la forme des conidies. De plus, tous les isolats qui produisent des périthèces en culture peuvent être rapportés à l'espèce *Glomerella cingulata*. Par contre, des différences notables apparaissent au niveau du phénotype des thalles et de quelques caractères physiologiques et biométriques. C'est ainsi que les isolats ont pu être distingués à partir du faciès du mycélium aérien, de la forme des acervules, de la présence des périthèces, de la vitesse de croissance mycélienne et de la longueur des conidies. L'analyse numérique des données recueillies a permis, par l'évaluation des affinités entre individus, d'établir un schéma synthétique de la collection. Celle-ci apparaît organisée en sous-ensembles peu délimités du fait d'une variabilité intragroupe très importante. Les groupes ainsi constitués sont sans relation apparente avec la réalité parasitaire ou l'origine géographique des isolats. A ce stade, les conclusions se limitent à faire ressortir que nous sommes en présence d'un ensemble polymorphe au sein duquel aucune structure réelle ne se dégage pour un ou quelques caractères dominants.

L'étude des isolats de *Colletotrichum graminicola* portant sur



des caractères semblables montre que les différences observées entre les cultures clonales sont significatives de l'existence d'entités différenciées dont la plus évidente est celle constituée des isolats de canne à sucre. La séparation est encore incertaine entre les isolats de maïs et du sorgho à partir des caractères morphologiques.

L'analyse par électrophorèse sur gel d'amidon de trois activités enzymatiques après extraction des protéines intracellulaires vient renforcer les conclusions précédentes. La classification obtenue fait ressortir, en l'affinant, la structure discontinue de l'ensemble *C. graminicola*. Les isolats de canne à sucre et ceux du maïs constituent manifestement deux groupes séparés à l'intérieur desquels la variabilité paraît faible. Les deux isolats du sorgho représentent sans doute des individus satellites du groupe des isolats maïs. L'étude d'un plus grand nombre d'individus est nécessaire pour préciser cette position.

Chez le *C. gloeosporioides*, l'analyse des profils enzymatiques fait au contraire ressortir une structure éclatée en petites sous-unités apparemment homogènes pour une activité enzymatique donnée. La diversité des spectres et les associations entre isolats différentes selon les activités étudiées montrent que les souches n'ont qu'une faible communauté génétique. Le dendrogramme généralisé obtenu en cumulant l'ensemble des données enzymatiques permet seulement de discerner deux niveaux différents du polymorphisme schématisés par deux grands groupes.

L'étude du pouvoir pathogène conduit enfin à distinguer deux types de comportement selon les deux espèces étudiées, chacun d'eux étant en définitive parfaitement cohérent avec le type d'organisation mis en évidence à chaque étape de l'analyse.

Chez le *C. graminicola*, les structures de groupe observées sont en relation directe avec une étroite spécificité parasitaire. Tous les caractères étudiés traduisent donc un déterminisme marqué vers l'isolement d'unités spécifiques distinctes. Il nous paraît justifié, étant donné cette convergence d'arguments, de reconsidérer la position taxonomique de l'espèce adoptée par

Von ARX et MULLER (1954). La restauration ou le maintien du binôme *C. falcatum* regroupant les isolats de canne à sucre, nous semble correspondre effectivement à une réalité biologique dans la mesure où tous les caractères utilisés dans notre étude montrent qu'il s'agit d'un groupe homogène nettement séparé des autres isolats de graminées. En accord avec SUTTON (1968) sur ce point, nous considérons que d'autres unités pourraient être distinguées parmi les souches parasites de graminées. Non seulement il serait possible de séparer les isolats de canne à sucre de tous les autres, mais en outre, les isolats du sorgho et ceux du maïs pourraient être différenciés. Le nombre trop limité des isolats étudiés ici ne peut cependant conduire qu'à la formulation d'une hypothèse.

Chez le *C. gloeosporioides*, l'absence de spécificité parasitaire et la distribution ordonnée des isolats en fonction de leur agressivité, traduisent au niveau du pouvoir pathogène le polymorphisme caractéristique du taxon. Celui-ci repose sans doute sur une très large base génétique puisque nous n'avons pas pu mettre en évidence de groupes suffisamment homogènes pour déterminer des voies de différenciation au sein de l'ensemble. Il est donc important de s'interroger sur la nature des mécanismes qui président au maintien du polymorphisme. La sexualité et la parasexualité sont, dans le cycle biologique d'un champignon, les deux événements qui semblent devoir le plus contribuer à des échanges et des recombinaisons de matériel génétique entre les individus.

La sexualité, par la voie de la méiose, est sans doute la voie la plus favorable à des recombinaisons géniques chez les organismes vivants. Mais son rôle paraît limité dans le cas qui nous préoccupe. D'abord parce qu'une partie des isolats de notre collection, ceux du genre *Colletotrichum* sensu stricto, n'ont pas de reproduction sexuelle. Ensuite par le fait que ceux qui présentent la forme *Glomerella* sont parfaitement homothalliques puisqu'ils sont issus d'une spore isolée uninuclée. Nous avons cependant cherché à vérifier les possibilités de complémentation entre souches sexuées en confrontant des clones monoascospores de type "plus" et de type "moins" entre les différents isolats présentant une forme de reproduction sexuelle dans notre collection. Nous avons constaté, comme LUCAS et al. (1944), que la confrontation des deux types conduit à la formation de périthèces hybrides seulement s'ils proviennent du même thalle parental. La reproduction sexuelle, quand elle existe, ne semble

donc pas canaliser les échanges géniques.

La parasexualité pourrait être un support de ces échanges. Les travaux de BUXTON (1956) sur le *Fusarium oxysporum* ont été les premiers à révéler qu'un tel mécanisme pouvait intervenir chez les champignons et conduire à l'apparition de types recombinés en l'absence de reproduction sexuelle. Les travaux de STEPHAN (1967) et, plus récemment, ceux de SERE (1977) semblent montrer que la parasexualité intervient au cours du cycle biologique des *Colletotrichum*. STEPHAN (1967) montre en particulier que les conditions nécessaires à la réalisation du processus parasexuel : articles mycéliens plurinucléés, anastomoses et migration des noyaux par les ponts mycéliens, sont réalisées chez le *C. gloeosporioides*. Pourtant, l'instabilité des hétérocaryons est grande et les recombinants mitotiques ne peuvent être obtenus par SERE (1977) que dans des conditions expérimentales très précises. Ces restrictions jettent un doute sur la généralité du fonctionnement d'un tel processus dont la réalité dans la nature n'a pas été clairement démontrée. On peut penser qu'elle n'intervient que dans des conditions limites, sous la pression de sélection de l'environnement par exemple.

Les mutations enfin constituent comme chez tous les organismes vivants une source de modification du génome. Mais elles restent ponctuelles, d'une fréquence faible et ne doivent pas avoir un rôle plus prépondérant que les autres processus génétiques.

Nous n'avons donc pas de réponse déterminante à apporter sur les mécanismes qui maintiennent le polymorphisme. Il s'agit sans doute d'un état d'équilibre auquel concourent, à des degrés divers, tous les paramètres du milieu et les caractéristiques biologiques du champignon. Une approche plus précise, centrée sur des populations pathogènes limitées, permettrait peut-être de mieux appréhender le fonctionnement d'un tel système.

La structure du groupe *Colletotrichum gloeosporioides* apparaît en définitive extrêmement souple et susceptible d'évoluer constamment vers de nouvelles formes d'expression pathogéniques et physiologiques.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- ALLARD C., 1972. Etat actuel de nos connaissances concernant l'immunité du haricot au *Colletotrichum lindemuthianum*. Ann. Phytopathol. 4, 165-181.
- ARX J.A. Von, 1957. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopathol. Z. 29, 413-468.
- ARX J.A. Von, et E. MULLER, 1954. Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. Beitr. Kryptogamenflora Schweiz 11, 1-434.
- BABACAUH K.D. 1980. Structure et dynamique des populations de *Phytophthora* sp. parasite du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Thèse Doctorat d'Etat. Université Paris XI. Orsay.
- BANNEROT H. et R. RICHTER, 1968. Etude de la descendance de deux croisements de haricot pour leur résistance à différentes races physiologiques d'antracnose. Ann. Amélior. Plantes 18, 2, 171-179.
- BENZECRI J.P., 1973. L'analyse des données - 2 : l'analyse des correspondances Dunod. Edit. Paris. 619p.
- BIGGS R., 1937. The species concept in *Corticium coronilla*. Mycologia 29, 686-706.
- BOISSON C. et J.L. RENARD, 1967. Les maladies des plantes maraîchères en Côte d'Ivoire. Agron. Trop. 8, 669-675.
- BOULTER D., D.A. THURMAN et B.L. TURNER, 1966. The use of disc electrophoresis of plant proteins in systematics. Taxon 15, 135-143.
- BUXTON E.W., 1956. Heterokaryosis and parasexual recombination in pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. J. Gen. Microbiol. 15, 133-139.
- CHARRIER A. et H. BANNEROT, 1970. Contribution à l'étude des races physiologiques de l'antracnose du haricot. Ann. Phytopathol. 2, 489-506.
- CHEVAUGEON J., 1956. Les maladies cryptogamiques du manioc en Afrique Occidentale. Encyclopédie Mycologique XXVIII, Paul Lechevalier Edit. Paris.
- CHOUDURY M. et Q.A. AHMED. 1969. Physiologic specialization of *Colletotrichum corchori* the causal organism of anthracnose of jute (*Corchorus capsularis* L.). Mycopathol. Mycol. Appl. 38, 161-168.
- CLARE B.G., 1963. Starch gel electrophoresis of proteins as an aid in identifying fungi. Nature, 200, 803-804.
- CLARE B.G. et G.A. ZENTMYER, 1966. Starch gel electrophoresis of proteins from species of *Phytophthora*. Phytopathology, 68, 163-167.
- CLARE B.G., N.T. FLENTJE et M.R. ATKINSON, 1968. Electrophoretic patterns of oxidoreductases and other proteins as criteria in fungal taxonomy. Aust. J. Biol. Sci. 21, 275-295.

- DAGNELIE P., 1975. Théorie et méthodes statistiques. Presses Acad. Gembloux. Belgique. 2 Vol.
- DERBYSHIRE E. et B.A. WHITTON, 1968. A disc electrophoretic study of proteins of blue-green algae. *Phytochem.* 7, 1355-1360.
- EDGERTON C.W., 1908. The physiology and development of some anthracnoses. *Bot. Gaz.* 45, 367-408.
- EDGERTON C.W., 1914. Plus and minus strains in the genus *Glomerella*. *Am. J. Bot.* 1, 244-254.
- FLOR H.H., 1956. The complementary systems in flax and flax rust. *Adv. Genet.* 8, 29-54.
- FOLLIN J.C., 1968. Sur le déterminisme de la formation du périthèce chez *Glomerella cingulata* (ston.) Sp et Schr. f. *Sp. Gossypii*. *Cot. et Fib. Trop.* 23, 447-451.
- FOLLIN J.C., 1969. Sur les différentes formes de *Glomerella* et de *Colletotrichum* isolées du cotonnier. I. Localisation et étude morphologique. *Cot. et Fib. Trop.* 24, 337-343.
- FOLLIN J.C. et J. SCHWENDIMAN, 1974. La résistance dukénaf (*Hibiscus cannabinus* L.) à l'anthracnose (*Colletotrichum hibisci* Poll.) Déterminisme génétique et influence sur le développement des épidémies. *Cot. Fib. Trop.* 29, 331-338.
- FOURNET J., 1973. L'anthracnose de l'aubergine aux Antilles. I. Caractérisation et spécificité du parasite. *Ann. Phytopathol.* 5, 1-13.
- FROST R.R., 1964. Setae formation in *Colletotrichum* sp.. *Nature*, 201, 730-731.
- GARBER E.D. et J.W. RIPPON, 1968. Proteins and enzymes as taxonomic tools. *Adv. Appl. Microbiol.* 10, 137-154.
- GEIGER J.P., M. LOURD et B. HUGUENIN, 1980. Les *Colletotrichum* agents d'anthracnose en Côte d'Ivoire. II. Polymorphisme enzymatique dans une collection d'isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.. *Ann. Phytopathol.* 12, 177-191.
- GILL H.S. et ZENTMYER G.A., 1978. Identification of *Phytophthora* species by disc electrophoresis. *Phytopathology*, 68, 163-167.
- GLYNN A.N. et J. REID, 1969. Electrophoretic patterns of soluble fungal proteins and their possible use as taxonomic criteria in the genus *Fusarium*. *Can. J. Bot.* 47, 1823-1831.
- HALL R., 1969. *Verticillium albo atrum* and *V. dahliae* distinguished by acrylamide gel electrophoresis of proteins. *Can J. Bot.* 47, 2110-2111.
- HALL R., 1973. Electrophoretic protein profiles as criteria in the taxonomy of fungi and algae. *Bull. Torrey Bot. Club* 100, 253-259.
- HALSTED B.D., 1893. Identity of anthracnose of the bean and watermelon. *Bull. Torrey Bot. Club* 20, 246-250.

- HINDORF H., 1973. *Colletotrichum* Population auf *Coffea arabica* L. in Kenia. I. Eine Methode zur systematischen Trennung von Pilzpopulationen. *Phytopathol. Z.* 77, 97-116.
- HUGUENIN B., M. LOURD et J.P. GEIGER, 1978. Discrimination between *Colletotrichum falcatum* and *Colletotrichum graminicola* on the basis of enzymatic polymorphisme and pathogenicity. 3rd Int. Congr. Plant. Pathol. Munich.
- ISLAM N. et Q. A. AHMED, 1964. The cause of tolerance of anthracnose (*Colletotrichum corchori*) in species and varieties of Jute. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47, 227-233.
- JENKINS S.F., N.N. WINSTEAD et C.L. Mc COMBS, 1964. Pathogenic comparisons of three new and four previously described races of *Glomerella cingulata* var. *orbiculare*. *Pl. Dis. Reptr.* 48, 619-622.
- KERSTERS K. et J. DE LEY, 1975. Identification and grouping of bacteria by numerical analysis of their electrophoretic protein patterns. *J. Gen. Microbiol.* 87, 333-342.
- LEBEAU F.J., 1950. Pathogenicity studies with *Colletotrichum* from different hosts on sorghum and sugar-cane. *Phytopathology* 40, 430-438.
- LII JANG LIU, 1972. Identification and occurrence of perfect stage and cultural and morphological variants of *Colletotrichum gloeosporioides* from Guava in Puerto Rico. *J. Dept. Agr. P.R.* 56, 171-180.
- LOURD M., J.P. GEIGER et M. GOUJON, 1979. Les *Colletotrichum* agents d'anthracnose en Côte d'Ivoire. I. Caractéristiques morphologiques et culturelles d'isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Ann. Phytopathol.* 11, 483-495.
- LUCAS G.B., 1946. Genetics of *Glomerella*. IV. Nuclear phenomena in the ascus. *Amer. J. Bot.* 33, 802-806.
- LUCAS G.B., S.P.J. CHILTON et C.W. EDGERTON, 1944. Genetics of *Glomerella*. I. Studies on the behavior of certain strains. *Amer. J. Bot.* 31, 233-239.
- Mc COMBS C.L. et N.B. WINSTEAD, 1963. Mycelial protein comparisons of isolates of cucurbit anthracnose fungi. *Phytopathology* 53, 882. (Abstr.)
- MILHOLLAND R.D., 1975. Susceptibility of highbush and rabbiteye blueberry in North Carolina to *Glomerella cingulata*. *Pl. Dis. Reptr.* 59, 189-192.
- MULLER R.A., 1978. Contribution à la connaissance de la phytomycocénose *Coffea arabica* L., *Colletotrichum coffeanum* Noack sensu Hindorf, *Hemileia-vastatrix* B et Br., *Hemileia coffeicola* Maub. et Rog. Thèse Doctorat d'Etat. Université Paris VI.
- MUTHAPPA B.N., 1974. Comparative morphology and characterization of *Colletotrichum* occurring on *Coffea arabica* in South India. *J. Coffee Res.* 4, 105-118.
- NELSON R.R., 1978. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 16, 359-378.

- PARLEVLIET J.E. et J.C. ZADOKS, 1977. The integrated concept of disease resistance ; a new view including horizontal and vertical resistance in plants. *Euphytica* 26, 5-21.
- RAMSEY G.B., M.A. SMITH et B.C. HEIBERG, 1951. Anthracnose of peaches. *Phytopathology* 41, 447-455.
- RAYNAL G., 1970. Contribution à l'étude des pourritures de capsules du cotonnier en El Salvador. II. Comparaison des caractères culturels et de la morphologie de *Colletotrichum indicum* provenant de El Salvador et de Thaïlande. *Cot. Fib. Trop.* 25, 443-448.
- REDDY M.M., 1973. Taxonomic application of isozyme electrophoresis in *Neurospora*. *Bull. Torrey Bot. Club* 100, 304-308.
- RENE-CHAUME R., 1975. Les méthodes de taxonomie numérique. *Boissiera* 24, 369-381.
- RESPLANDY R., J. CHEVAUGEON, M. DELASSUS et M. LUC, 1954. Première liste annotée de champignons parasites des plantes cultivées en Côte d'Ivoire. *Ann. Epiphyties* 1, 1-61.
- ROGER L., 1954. *Phytopathologie des pays chauds*. 3 tomes. Paul Lechevalier Ed. Paris.
- SERE Y., 1977. Hétérocaryose et parasexualité chez le *Colletotrichum lagenarium*. Relation avec le pouvoir pathogène. Thèse Doctorat 3ème cycle. Université Paris XI. Orsay.
- SHAW C.R. et R. PRASAD, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes, a compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4, 297-320.
- SHEAR C.L. et A.K. WOOD, 1913. Studies of fungus parasites belonging to the genus *Glomerella*. *U.S. Pl. Ind. Bur. Bull.* 252, 1-110.
- SIMMONDS J.H., 1965. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. *Queensl. J. Agric. Sci.* 22, 437-459.
- SMALL W., 1926. On the occurrences of a species of *Colletotrichum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 11, 112-137.
- SMITHIES O., 1955. Zone electrophoresis on starch gels : group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61, 629-641.
- SOKAL R.R. et P.H.A. SNEATH, 1963. *Principle of numerical taxonomy*. W.H. Freeman and Co. San Francisco.
- SPRAGUE R., 1950. *Diseases of cereals and grasses in North America*. Ronald Press Co. New York.
- STEPHAN B.R., 1967. Untersuchungen über die Variabilität bei *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. in Verbindung mit Heterokaryose.  
I. Morphologische Variabilität bei *C. gloeosporioides* Penz.  
II . Cytologische Grundlagen der Heterokariose.  
III. Versuche zum Nachweis der Heterokaryose.  
*Zbl. Bakt. H.* 2 Abt. 121, 41-57 ; 58-72 ; 73-83.

- STEVENS F.L., 1930. The response of ultraviolet irradiation shown by various races of *Glomerella cingulata*. Amer. J. Bot. 17, 870-881.
- STIPES R.J., 1965. Comparative morphology, pathogenicity, physiology and biochemistry of perithecial isolates of *Glomerella cingulata* obtained from different hosts. Ph. D. Thesis. North Carolina State Univ. Raleigh.
- STIPES R.J. et N.N. WINSTEAD, 1964. Comparative morphology of perithecial isolates of *Glomerella cingulata* obtained from different hosts. Phytopathology 54, 909. (Abstr.)
- STOUT D.L. et C.R. SHAW, 1974. Genetic distance among certain species of *Mucor*. Mycologia 66, 969-977.
- SUTTON B.C., 1966. Development of fructifications in *Colletotrichum graminicola* (Ces) Wils. and related species. Can. J. Bot. 44, 887-897.
- SUTTON B.C., 1968. The appressoria of *Colletotrichum graminicola* and *C. falcatum* Can. J. Bot. 46, 873-876.
- VAN DER PLANK J.E., 1968. Disease resistance in plants. Academic Press. New York and London.
- VAN DER VOSSEN H.A.M., R.T.A. COOK et G.N.W. MURAKARU, 1976. Breeding for resistance to coffee berry disease caused by *Colletotrichum coffeanum* (Sensu Hindorf) in *Coffea arabica* L. I. Methodes of preselection for resistance. Euphytica 25, 733-745.
- VAN DER VOSSEN H.A.M et D.J. WALYARAO, 1980. Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica* L. II. Inheritance of the resistance. Euphytica 29, 777-791.
- WASTIE R.L. et G. SANKAR, 1970. Variability and pathogenicity of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from *Hevea brasiliensis*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 54, 117-121.
- WHEELER H.E. et C.H. DRIVER, 1953. Genetics and cytology of a mutant, dwarf-spored *Glomerella*. Amer. J. Bot. 40, 694-702.
- WHEELER H.E., et J.W. Mc GAHEN, 1952. Genetics of *Glomerella*. X. Genes affecting sexual reproduction. Amer. J. Bot. 39, 110-119.
- WHEELER H.E., L.S. OLIVE, C.T. ERNEST et C.W. EDGERTON, 1948. Genetics of *Glomerella*. V. Crozier and ascus development. Amer. J. Bot. 35, 722-728.



- RESUME -

L'espèce *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. définie par Von ARX constitue un vaste taxon réunissant des champignons pathogènes, très répandus en régions tropicales, qui affectent les plantes les plus variées. Ces champignons sont connus pour la diversité de leurs caractéristiques morphologiques et leur large spectre parasitaire. De ce fait, l'espèce apparaît comme un ensemble très diversifié dont la structure et les limites semblent peu précises.

L'étude entreprise en Côte d'Ivoire a pour objectif de déterminer les principales caractéristiques du taxon à partir de 40 isolats collectés sur de nombreuses plantes. La description de chaque isolat porte sur un ensemble de caractères relatifs à la morphologie, la physiologie et au pouvoir pathogène. Tous les individus sont ensuite comparés et la synthèse des données effectuée grâce aux méthodes de la taxonomie numérique permet de dégager des informations sur la structure de l'ensemble étudié. Cette analyse est complétée par celle réalisée dans des conditions identiques sur quelques isolats de l'espèce *C. graminicola*.

La première partie de l'étude est consacrée aux caractéristiques morphologiques et culturales. Les isolats de *C. gloeosporioides* sont comparés à partir de sept caractères se rapportant à l'aspect du mycélium aérien, la forme et le nombre des acervules, la reproduction sexuelle, la dimension des conidies et la vitesse de croissance mycélienne. Chacun des caractères met en évidence l'existence de différences morphologiques ou physiologiques notables entre les individus de la collection. L'analyse et la comparaison des isolats sur l'ensemble de ces données révèlent l'existence de 3 groupes distincts au sein de la collection. Deux de ces groupes semblent constitués à partir de caractères prédominants qui sont respectivement l'intensité de la sporulation asexuelle et la présence de la reproduction sexuée. Mais la variabilité intragroupe reste très importante et dénote la relative faiblesse des affinités entre individus.

De plus, aucune corrélation entre types morphologiques et origine géographique ou parasitaire ne peut être observée. La variabilité morphologique, sans déterminisme marqué permettant de caractériser des types bien définis, est donc le reflet d'une structure polymorphe propre à cette espèce.

L'analyse par électrophorèse des protéines intracellulaires constitue la deuxième partie de cette étude. Trois activités enzymatiques ont été révélées:  $\alpha$ -estérases, phosphatases acides et leucyl-amino-peptidases. Les spectres  $\alpha$ -estérases sont les plus diversifiés avec 16 bandes pour l'ensemble des isolats et une moyenne de 6 bandes par isolat. Les spectres phosphatases et LAP avec respectivement 12 et 10 bandes sur l'ensemble de la collection ne présentent qu'une moyenne de 2 à 3 bandes par isolat. L'analyse numérique et les dendrogrammes qui en résultent montrent que des regroupements peuvent être effectués surtout à partir des spectres LAP et phosphatases. Cependant ils ne concernent que de petits nombres d'isolats et la composition de ces groupes varie en fonction de l'enzyme étudiée, ce qui implique une faible parentée génétique entre les individus compris dans ces regroupements. Par ailleurs, la diversité des zymogrammes et l'absence de bandes généralisées à l'ensemble de l'échantillon témoignent de la structure hétérogène de la collection.

L'étude du pouvoir pathogène permet enfin de préciser deux aspects du comportement de ces champignons. La plupart d'entre eux sont des parasites de faiblesse comme en témoignent les résultats des inoculations sur leurs plantes d'origine. La blessure préalable de l'hôte s'avère le plus souvent nécessaire à la pénétration du champignon. Mais ils sont capables d'infecter un grand nombre de plantes différentes. La gamme de plantes hôtes composée de Cucurbitacées, Euphorbiacées et Malvacées permet de constater l'absence de spécificité étroite des isolats qui peuvent, de plus, être différenciés selon la largeur de leur spectre d'hôtes.

L'évaluation quantitative du pouvoir pathogène de chacun des isolats de notre collection a été réalisée par inoculations sur cinq variétés de jute.

Ces plantes constituent des révélateurs du potentiel d'agressivité du champignon. Les résultats obtenus montrent que les facteurs d'agressivité sont régulièrement distribués parmi les isolats testés. Ceux-ci se rangent en trois classes, déterminées par un test statistique, séparant deux groupes d'individus très agressifs d'un ensemble très vaste composé d'isolats faiblement pathogènes.

La synthèse de l'ensemble des données donne l'image pour le *C. gloeosporioides* d'une structure éclatée, représentative du polymorphisme enregistré pour tous les caractères étudiés. Ce polymorphisme reposant sur une large base génétique semble correspondre à un équilibre maintenu par l'expression préférentiellement quantitative du pouvoir pathogène.

Chez le *Colletotrichum graminicola*, les caractères morphologiques et biochimiques révèlent l'existence de groupes nettement différenciés en fonction de leur spécificité parasitaire. Les isolats de canne à sucre constituent un ensemble homogène au sein duquel les individus montrent une étroite parenté génétique au niveau de leurs spectres enzymatiques. Certaines variations peuvent toutefois être enregistrées pour les caractères morphologiques, particulièrement la dimension des conidies, mais elles restent dans les limites du groupe. Les tests de pathogénie confirment la spécialisation parasitaire de ces isolats étroitement inféodés à leur hôte d'origine.

Chez les isolats du maïs et du sorgho, l'analyse des différents caractères permet de cerner progressivement les particularités de chacun d'eux. L'étude des profils protéiques et enzymatiques apporte de nouveaux arguments pour suggérer leur séparation en deux phylums distincts. Celle-ci paraît confirmée par leur étroite spécificité parasitaire.

La synthèse de l'ensemble des données par l'analyse numérique montre de façon évidente l'existence de trois entités séparées, sans doute génétiquement isolées. Le regroupement des isolats de graminées dans le seul taxon *C. graminicola* préconisé par Von ARX semble aller à l'encontre des faits observés dans notre étude.

Ceux-ci justifient le rétablissement de l'espèce *Colletotrichum falcatum* pour les souches pathogènes de la canne à sucre. De plus, les souches issues du maïs semblent suffisamment séparées de celles du sorgho pour constituer un ensemble taxonomique distinct.